

Казанский Федеральный университет

ИНСТИТУТ ФИЗИКИ

Кафедра радиоэлектроники

А.И. ЕВСТИФЕЕВ, Н.В. КОТОВ

**МЕТОДЫ АНАЛИЗА СТРУКТУР БИОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СИСТЕМ,
УПРАВЛЯЮЩИХ КЛЕТОЧНОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

Учебно-методическое пособие

Казань – 2015

УДК 577.32

ББК

Принято на заседании кафедры радиоэлектроники

Протокол № 6 от 14 мая 2015 года

Рецензент:

доктор физико-математических наук,

проф., зав. лаб. биофизики транспортных процессов КНЦ РАН

Анисимов А.И.

Евстифеев А.И.

Методы анализа структур биомолекулярных систем, управляющих клеточной активностью / А.И. Евстифеев, Н.В. Котов.— Казань: Казан. ун-т, 2015. — 110 с.

В работе приведены сведения об методы анализа структур биомолекулярных систем, управляющих клеточной активностью. Учебно-методическое пособие предназначено для бакалавров и магистрантов, обучающихся по направлению радиофизика, физика.

© Евстифеев А.И., 2015

© Казанский университет, 2015

Оглавление

Введение	4
Глава 1. Виды структур и показателей свойств управляющих систем	7
1.1 Сигнальные системы клеток	8
1.2 Координатное, параметрическое или структурное управление	20
1.3 Основные классы задач и виды управления	21
1.4 Структурное управление	21
1.5 Технологический ремонт	21
1.7 Молекула L с 4 одинаковыми независимыми центрами связывания	27
1.8 Управление молекулой с n независимыми центрами связывания лиганда активностью различных белков	30
Глава 2. Метаболизм циклических монофосфатов	40
2.1 Ферменты метаболизма циклического аденозинмонофосфата	42
2.2 Ферменты метаболизма циклического гуанозинмонофосфата	44
Глава 3. Метаболизм NO	44
Глава 4. Фосфорилирование белков	49
Глава 5. Эритроцит	54
5.1 Сигнальная система эритроцитов	57
5.2 Моделирование	59
5.3 Анализ математической модели	63
5.4 Фосфорилирование белков эритроцита	72
5.5 Обезразмеривание	Ошибка! Закладка не определена.
5.6 Влияние ингибиторов на параметры эритроцитов	96
Список литературы	100

Введение

Проблема понимания механизмов работы сложных бимолекулярных систем, управляющих клеточной активностью в последние годы встает очень остро. С одной стороны это обусловлено тем, что молекулярная биология очень стремительно продвигается в вопросах выяснения молекулярного состава и связей (морфологии) самых различных биомолекулярных систем. Образно

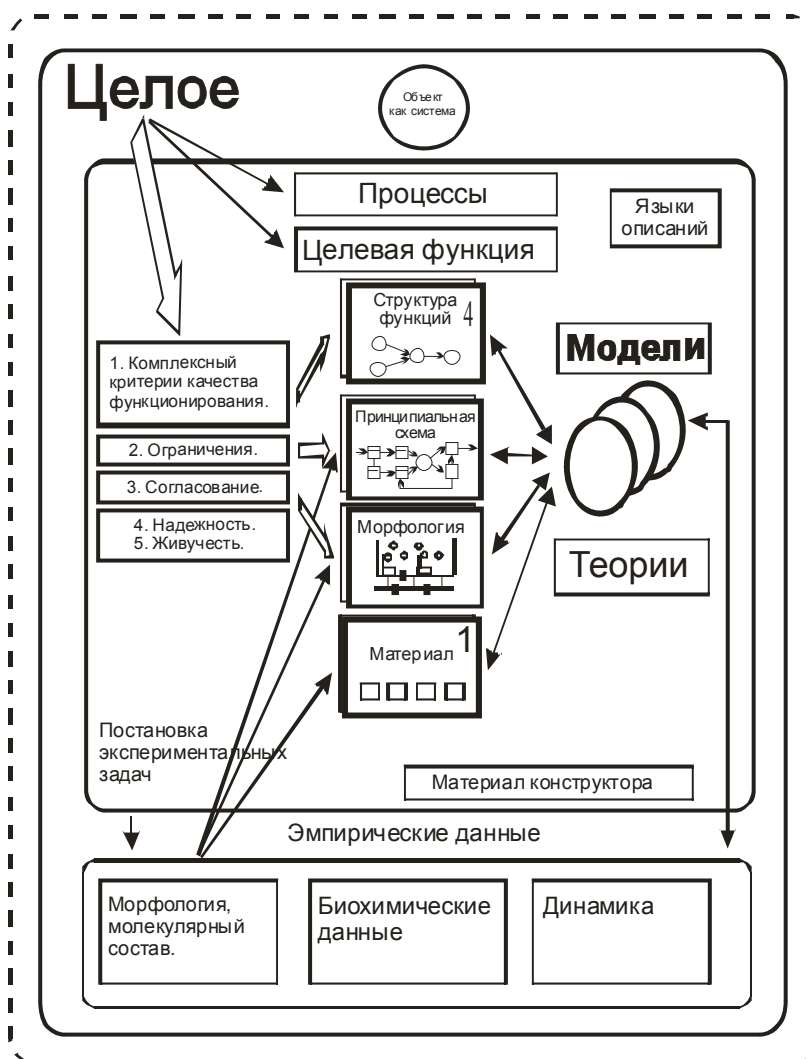


Рис. 1. Биологический объект как система

можно сказать, что бурно развивается «молекулярная анатомия». Однако достижения в области «молекулярной физиологии» сегодня на много скромнее.

Выяснения функции, механизмов процессов молекулярных систем во многих случаях еще далеко не завершено, многое сделать еще предстоит.

Развитие биологии с давних времен и по настоящее время происходило таким образом, что любой биологический объект как бы представлялся одновременно на двух плоскостях – анатомии и физиологии. И это задавало целостное видение биологического объекта. Все знания, оформленные таким образом, ложились в основу медицины, ветеринарии, сельского хозяйства, позволяя формировать достаточно успешные практики, разворачивать методы диагностики и лечения, культивирования и т.д.

В области молекулярной биологии сегодня в некоторых случаях этого нет. Например, сигнальные системы клеток во многих случаях представлены лишь на морфологических схемах и это автоматически означает, что нет понимания механизма работы этих сигнальных систем. И именно это, с нашей точки зрения, приводит к снижению эффективности применения знаний из области молекулярной биологии в практике.

Сегодня бурно развивается молекулярная системная биология, которая базируется на очень упрощенном морфологическом понятии системы. Система как совокупность элементов и связей между ними. Традиционно биология работает с другим понятием системы, где кроме этого есть еще структура функций, структура процессов, целое и т.д. (см. рис. 1). И только все это вместе задает системные представления биологического объекта. На рис. 1 представлена схема биологического объекта как системы в рамках традиционной биологии.

Данное пособие касается только методов анализа небольшой части молекулярных систем, а именно молекулярных систем, управляющих клеточной активностью, которые, как правило, называют сигнальными системами клеток.

Любая система, управляющая каким-то объектом, может быть представлена стандартной функциональной схемой. Детализация этой схемы определяется объектом управления, целями управления, критериями качества управления,

необходимой надежностью, живучестью, ограничениями, согласованиями и внешними помехами \bar{z}_i . В нашем случае объектами управления являются клеточные эффекторные системы, на основе которых формируется тот или иной тип клеточной активности, а управляющие молекулярные системы построены на различных элементах: программах, записанных в ДНК и метаболических процессах, продукты которых присутствуют в клетке в очень малых концентрациях, токах через ионные каналы и т.д.

По принципу, что любые управляющие системы строятся при минимальных затратах энергии и вещества.

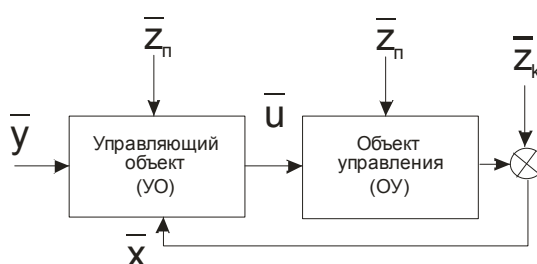


Рис. 2. Схема управления, представляющая целое

Многие годы при проектировании сложных технических систем, управляющих различными объектами [4], сложных систем деятельности [67] разрабатывались методы анализа и синтеза их структур. В данной работе, опираясь на эти разработки, мы представили методы анализа и сам анализ нескольких молекулярных структур, управляющих клеточной активностью.

В отличие от ситуации проектировщика сложных систем, которому необходимо спроектировать новую систему, исследователь биологических объектов имеет дело с уже существующими системами и ему нужно обеспечить такое представление этих систем, на основе которого можно разворачивать эффективные практики (эксплуатацию, лечение) и проектирование различных вариантов модернизации. В этом плане задача такого исследователя является в каком-то смысле обратной к задаче проектировщика, и она может быть представлена как задача репроектирования, восстановления проекта уже реализованной

системы. В этой ситуации мы сталкиваемся с необходимостью разворачивать методы проектирования в рамке исследования. Хотя нужно сказать, что уже очень давно есть проектирование в рамке исследования. Исследователь без проектирования и реализации своих инструментов мало, что может сделать. Мы же говорим о другом проектировании, гипотезирующем проектировании объекта исследования, которое определяет направление дальнейших исследований. Если сделать фундаментальное допущение, что живое является реализацией некоторого проекта, то наличие такого проекта, по которому якобы построена живое, может очень сильно упростить, с одной стороны обеспечение различных практик, с другой модернизацию живого. В нашем пособии мы коснемся только молекулярных систем, управляющих клеточной активностью, которые называют сигнальными системами клеток.

Глава 1. Виды структур и показателей свойств управляющих систем

В любой клетке протекает громадное количество различных физико-химических процессов, образующих сложную структуру. Их можно разбить на несколько различающихся по смыслу типов:

1. Физико-химические процессы, управляющие клеточной активностью, которые составляют структуру сигнальных систем клеток.
2. Физико-химические процессы, обеспечивающие клетку энергией.
3. Физико-химические процессы, обеспечивающие собственно синтез и распад различных молекул, которые являются элементами конструктора.
4. и т.д.

Различного рода управляющие системы вмонтированы в механизмы реализации всех этих процессов. В данной работе представлены методы анализа, которые могут быть полезными при анализе сложных молекулярных систем, управляющих клеточной активностью: ее поведением, пролиферацией, морфологической активностью и т.д.

Как мы уже говорили, при разработке нашего метода анализа мы опирались на то, что используется при анализе сложных технических управляющих структур [4] и сложных систем деятельности [67].

1.1 Сигнальные системы клеток

В живом выделяют особый тип объектов, которые называют сигнальными системами клеток. Это могут быть, например, молекулярные системы, управляющие клеточной активностью, или системы, состоящие из группы клеток, обменивающихся сигналами. Возникает вопрос – как исследовать эти объекты? Достаточно ли имеющихся у нас инструментов для их исследования и анализа. С большой долей уверенности можно сказать, что нет, не достаточно. И проявляется это прежде всего в том, что человечество сегодня столкнулось с целым рядом заболеваний, которые не поддаются эффективному лечению. Это сердечно-сосудистые заболевания, аутоиммунные заболевания, расстройства психики, псориаз и т.д. Для этих заболеваний пока есть только симптоматическое лечение, которое смягчает последствия болезни, не устраняя само заболевание. Мы полагаем, что проблема с диагностикой и лечением этих заболеваний связана с тем, что наши мыслительные средства недостаточны для их эффективного анализа.

Сигнальная система клеток. Что это такое? Как можно определить этот объект?

Активность – это самый существенный признак отличающий живые организмы от неживых объектов. Живое – акция, неживое реакция. При воздействиях неживое реагируют на основе физико-химических законов, живые же организмы на воздействия отвечают акциями, цель которых выжить и размножиться. В норме акции живых организмов носят целесообразный характер, реакции законосообразны. Неживое устроено законосообразно, живое целесообразно. В полной мере это касается не только многоклеточных организмов, но и клеток животных и растений. Наличие активности у клеток требует наличия

эффекторных (исполнительных) систем и системы, которая собирая сигнальную информацию из внешнего и внутреннего мира, эффективно управляет ее эффекторами, формируя у клеток активное отношение к миру. Для одноклеточных организмов это справедливо в полной мере. Для клеток многоклеточных организмов специфика определяется тем, что цели их существования подчинены цели выживания и размножения особей данного вида, к которому относится организм состоящий из клеток.

Какие типы активностей сегодня выделяют у клеток? Это двигательная активность, пролиферативная активность, дифференцировка, жизненный цикл, защитные реакции, адаптивные перестройки, секреция, изменения экспрессии генов и т.д.

Сигнальная система клеток – это система, которая собирая сигнальную информацию из внешнего и внутреннего мира, эффективно (целесообразно) управляет ее эффекторами и генами, формируя активное отношение к миру.

По сути это управляющая система, которая управляет эффекторами клеток (объект управления и управляющая система образуют единое целое объект нашего исследования).

Этот объект исследуется очень давно в предметах молекулярной биологии, биохимии, биофизике. В последние 20 лет появилось новое направление - системная биология, в рамках которой пытаются применить системный подход к исследованию сигнальных систем клеток. Однако, каких-то больших прорывов в понимании механизмов работы сигнальных систем клеток пока нет.

Будем использовать системодейательностный подход. Основания, которые заставляют нас вставать на его позиции, как видно, весьма просты, хотя и не тривиальны. Если мы пришли к такому положению дел, что представления об объекте изучения кажутся нам нескладными и внутренне противоречивыми, если они не раскрывают новых перспектив перед нашей практикой, если нам приходится то и дело констатировать, что в наших представлениях об объекте нет теперь порядка, то надо, говорим мы, перестать "пялиться" на объект и в нем

искать причины и источники этого беспорядка, а обратиться к своей собственной мыследеятельности, к ее средствам, методам и формам организации, и произвести перестройку в них, ибо наши представления об объекте, да и сам объект как особая организованность, задаются и определяются не только и даже не столько материалом природы и мира, сколько средствами и методами нашего мышления и нашей деятельности [67].

Если натуралистический подход ориентирует нас в первую очередь на материал природы, в нем непосредственно видит разрешение затруднений и парадоксов современной науки, то деятельностный подход, напротив, ориентирует нас в первую очередь на средства, методы и структуры нашей собственной мыследеятельности, и в их перестройке и развитии видит он путь дальнейшего совершенствования самой науки.

Прежде всего необходимо выработать новые категориальные представления объектов наших исследований и разработок. И именно в этой связи, как уже было сказано, мы обращаемся к структурно-системным представлениям и стараемся представить объекты нашего мыследействования как структуры и системы или, если говорить точнее, как полиструктуры и полисистемы. А затем, исходя из этого категориального представления объектов наших исследований, мы стремимся определить возможные формы организации таких исследований - предметные, не предметные, надпредметные [68, 69][Щедровицкий 1966а, 1981а, 1987b; Schedrovitsky 1982a]. Будем базироваться пока, в первую очередь, на категории системы, снимающей и организующей все другие категории; как целое она будет организовываться специальной рефлексией методологического мышления, фиксируемой в средствах содержательно-генетической эпистемологии (и логики), а также в онтологических представлениях всех методологических дисциплин [Щедровицкий 1981а; Schedrovitsky 1982a].

Чтобы двигаться дальше необходимо дать понятие системы. Сегодня существует два понятия системы. Первое – система это совокупность элементов и связей между ними. Что такое элемент и связь мы уточним ниже.

Второе понятие системы было разработано в работе (Щедровицкий 1967). Суть этого подхода представлена на схеме 1. Любой объект, если мы его рассматриваем как систему, должен быть представлен на 4 разных схемах: процессуальной, функциональной, морфологической и схемой материала. Кроме этого необходимо иметь разработанные языки описания, теории, модели, связывающие эти схемы, критерии качества, ограничения, механизмы обеспечения надежности. Также нужно иметь представления о свойствах, задающих систему как целое. Например, в нашем случае этими свойствами могут быть связки **ситуация – результат**, обусловленный тем или иным типом активности клетки. У клеток многоклеточных есть апоптоз - клеточное самоубийство, который используется как в функции аварийной защиты, защиты от вирусной инфекции, так и в морфогенетической функции. В первом случае клетка включает апоптоз, когда в ней происходят серьезные нарушения, обусловленные физико-химическими факторами или вирусом, угрожающие гибелью многоклеточного. Во втором, когда необходимо сформировать структуру какой-то ткани. Результат один и тот же – гибель клетки, а ситуации, в которых это происходит совершенно разные.

Элемент - объект, который не возможно или не требуется при данном анализе расчленять на составные части. Понятие элемента вообще соотносительно с понятием связи, которая всегда как бы накладывается на элемент в структурах. Более того, когда мы говорим о свойствах каких-либо элементов, то мы должны выделять и иметь в виду прежде всего их функциональные свойства, т.е. то, что возникает у элементов за счет их жизни или существования в системах связей, в структурах.

Из этого следует второй принцип: что свойства элемента отнюдь не всегда и не все могут быть исследованы эмпирическим путем. Чтобы определить свойства элементов, мы должны чаще всего идти совершенно другим путем: мы должны выявить свойства системы как целого, а затем сконструировать такие представления об элементах и их свойствах, чтобы из них можно было вывести

выявленные нами свойства целого. При этом мы всегда вводим в целое не просто элементы, а обязательно полную структуру, т.е. элементы и связи между ними. И то, и другое мы наделяем такими свойствами, чтобы из них можно было вывести внешние параметры целого.

Сигнальные системы клеток входят в механизм основных процессов, протекающих в клетке. Процесс – это совокупность последовательных операций, направленных на достижение определенного результата (продукта). Кирпичики, из которых складываются эти процессы, называются операциями. Сигнальные системы клеток являются единицами механизма процессов управления.

Ясно, что продукт есть результат и создание всего процесса в целом, состоящего из многих операций. Теперь представим себе, что мы осуществили первую операцию. Достаточно спросить себя, как она была выделена и реализована – в связи с представлением о конечном продукте или же, наоборот, совершенно безотносительно к нему. Этот вопрос можно продолжить: зависит ли первая операция от последующих или, наоборот, она выбирается и осуществляется безотносительно к ним?

Это – вторая группа соображений, показывающая нам, что всякий процесс может быть только целостным образованием, причем эта целостность определяется обеими указанными выше факторами: как внешним функциональным признаком, вытекающим из требований к продуктам, так и внутренней жесткой связностью и зависимостью между самими операциями.

Из всего этого мы можем сделать вывод, что самым главным при реконструкции процесса являются связи, превращающие совокупность операций в одно структурированное связное целое. Но таким образом главным в исследовании процессов оказывается не расчленение сигнальной системы на отдельные операции и выделение операций, а установление того, что делает эту последовательность операций одним целостным образованием, одним целостным процессом решения задачи. Иными словами, это проблема: какие же именно связи "работают" в процессах работы сигнальных систем ?

Поэтому здесь мы можем высказать предположение, что структура процесса управления может задаваться не только и не столько связями между самими операциями, их материей, сколько между элементами плана смысла, или плана содержания, сигнальных систем.

Мы знаем, что если какой-либо анализ содержит две связанных между собой процедуры: разложение целого на составляющие и объединение, связывание этих составляющих в одно целое, – то между этими процедурами в самом анализе устанавливается строго определенная зависимость. Первая часть всего процесса – анализ – оказывается зависимой от его второй части – объединения. Мы должны расчленять целое так, на такие составляющие и элементы, чтобы затем можно было в соответствии с имеющимися у нас способами связать, объединить их в одно целое. Проводя анализ, мы должны уже учитывать нормы и правила последующего синтеза, ориентироваться на них. И это становится основным законом соответствующих процедур исследования.

Иначе говоря, операция есть наименьший, далее неразложимый, или элементарный, процесс.

Процесс должен обладать началом и концом. Конец мы определяем в соответствии с методикой эмпирического анализа, с помощью продукта, активности клетки. Но, где находится начало операции или процесса, лежащего перпендикулярно к продукту, чем оно задается? Отвечая на этот вопрос, можно попробовать предположить, что конец предшествующей операции – некоторая молекула – будет вместе с тем и началом следующей операции. Итак, как конец, так и начало операций или процессов это – активность.

Функции любой сигнальной системы, являющейся частью клетки, определяется ее смыслом. Смысл же задается тем, что эти сигнальные системы являются элементами механизма основных базовых процессов, протекающих в клетках. Таких процессов несколько: воспроизводство, функционирование, эволюционное развитие, защита, захоронение. Процессы же, характеризующие сигнальные системы, это организация, руководство, управление.

В механизм любого из вышеперечисленных процессов входят сигнальные системы.

Процесс воспроизводства. В структуру всех живых клеток входят макромолекулы, время жизни которых ограничено. Это приводит к тому, что в клетке должен идти непрерывно процесс синтеза новых макромолекул и замены отработавших макромолекул новыми. В клетках непрерывно заменяются все белки, липиды, сахара и т.д. Причем замены происходят строго выверенным образом под управлением своей сигнальной системы.

Процесс функционирования. В многоклеточных организмах он определен смыслом существования этой клетки или группы клеток в организме. Этот процесс находится под управлением своей сигнальной системы клеток.

Процесс защиты – иммунитет. Механизм иммунитета многоклеточных строится на работе клеток нескольких типов с достаточно сложными сигнальными системами. Клетки иммунной системы распознают различные инфекции или повреждения и устраняют их. Кроме того, они обеспечивают непрерывный ремонт заменой на уровне целых клеток или отдельных клеточных элементов.

Жизненный цикл клетки. Каждый клеточный тип можно охарактеризовать своим жизненным циклом, начинающимся с момента появления клетки, затем ее преобразований и у многоклеточных запрограммированной смерти.

Когда речь идет о сигнальной системе, то мы можем выделить два принципиально разных типа процессов: физико-химические процессы и процессы, обусловленные смыслом существования клетки. Физико-химические процессы являются вещественной частью процессов анализа, выработки и реализации управляющих воздействий. Физико-химические процессы построены на реакциях комплексообразования, ферментативного катализа, ковалентной модификации и т.д., которые прямого отношения к результату (продукту) не имеют. Процесс приема и анализа сигнальной информации предполагает прежде всего построение логической системы, которая осуществляет исчисление сигналов. Что бы понять механизм ее работы, нужно понять, в какой логике построена эта

система, и затем ответь на второй вопрос, как она реализована на вещественных физико-химических процессах.

Проанализируем механизмы двух процессов: руководства и управления. Сегодня есть средства в молекулярной биологии, биохимии, биофизике, которые позволяют выделить в сложных системах отдельные элементы и установить связи между ними. В результате такой работы мы получаем морфологическую схему исследуемой системы. Можно ли сказать, насколько полна такая морфологическая схема, все ли элементы и связи выделены? Скорее всего, что нет, вопрос полноты не может быть решен средствами вышеперечисленных предметников. Построив морфологическую схему, мы можем построить математическую модель, которая представит нам кинетику изменения переменных. Но можем ли мы после этого ответить, как работает эта сложная система. Что мы смоделировали патологию или норму или нечто, не имеющее отношение к нашему объекту?

В работе [Щедр] дается инструментарий для исследования, анализа и прежде всего проектирования, планирования сложных систем. Этот инструментарий базируется на базовом понятии системы, которое можно представить следующей схемой (рис. 2). Основная направленность этого инструментария на построение будущего. Нам же на первых шагах хотелось бы понять, как работают сложные молекулярные системы в живом, обеспечивающие механизмы процессов организации, руководства и управления. Что значит понять? Это, прежде всего, научиться диагностировать и лечить патологии, связанные с нарушением их работы.

Системные представления объекта в рамках СМД методологии.

За счет понятия системы мы производим расслоение нашего объекта на четыре разных типа связанных друг с другом схем: процессуальная, функциональная, морфологическая, субстратная. Причем каждая схема строится по определенным правилам в своей логике. Когда объект задан, то морфологическая схема строится в исследовательской позиции.

Эта схема фиксирует результат наших исследований и отвечает на вопрос, из каких элементов состоит наша сложная система и как эти элементы связаны друг с другом. Эту схему можно рисовать, максимально приближаясь к тому, что можно увидеть. Но это будет всего лишь рисунок, а не схема. Чтобы получилась схема этот рисунок нужно идеализировать. Что такое – идеализация морфологической схемы. Это абстрагирование (уход от простого рисунка), где выделяются сущностные аспекты морфологической схемы. На этой схеме каждый элемент обозначается своим типологическим знаком, который формируется номиналистически – по договоренности. Знак типа с дополнительной маркировкой, который несет информацию о сущностных свойствах данного элемента. На этой схеме рисуются эти знаки и линиями фиксируются связи элементов друг с другом. В качестве таких связующих элементов могут быть концентрации молекул (кальция, циклического монофосфата и т. д.).

Об организации управляющих поведением клеток систем было сказано много. “На самом деле клетка, эта основная единица всего живого сама по себе представляет сложную систему, в которой при дальнейшем ее изучении мы обнаруживаем и большое число независимых параметров и разные более или менее автономные подсистемы и ”блочную” организацию регуляторных процессов, и другие характерные черты “больших высокоорганизованных систем” [70] стр. 156. Сегодня в молекулярной биологии язык таких морфологических схем еще не сложился. Хотя хорошо известно, что основными элементами сложных молекулярных систем являются белки, которые могут быть модифицированы, находится в комплексе с различными молекулами, быть встроенными в липидный матрикс, фиксированными на цитоскелете или экстраклетонном матриксе. Несмотря на то, что мы можем знать строение этих белков и их взаимодействия с другими молекулами, сущностных их свойств мы часто не знаем. Свойств, которые определяют наличие данного элемента в системе.

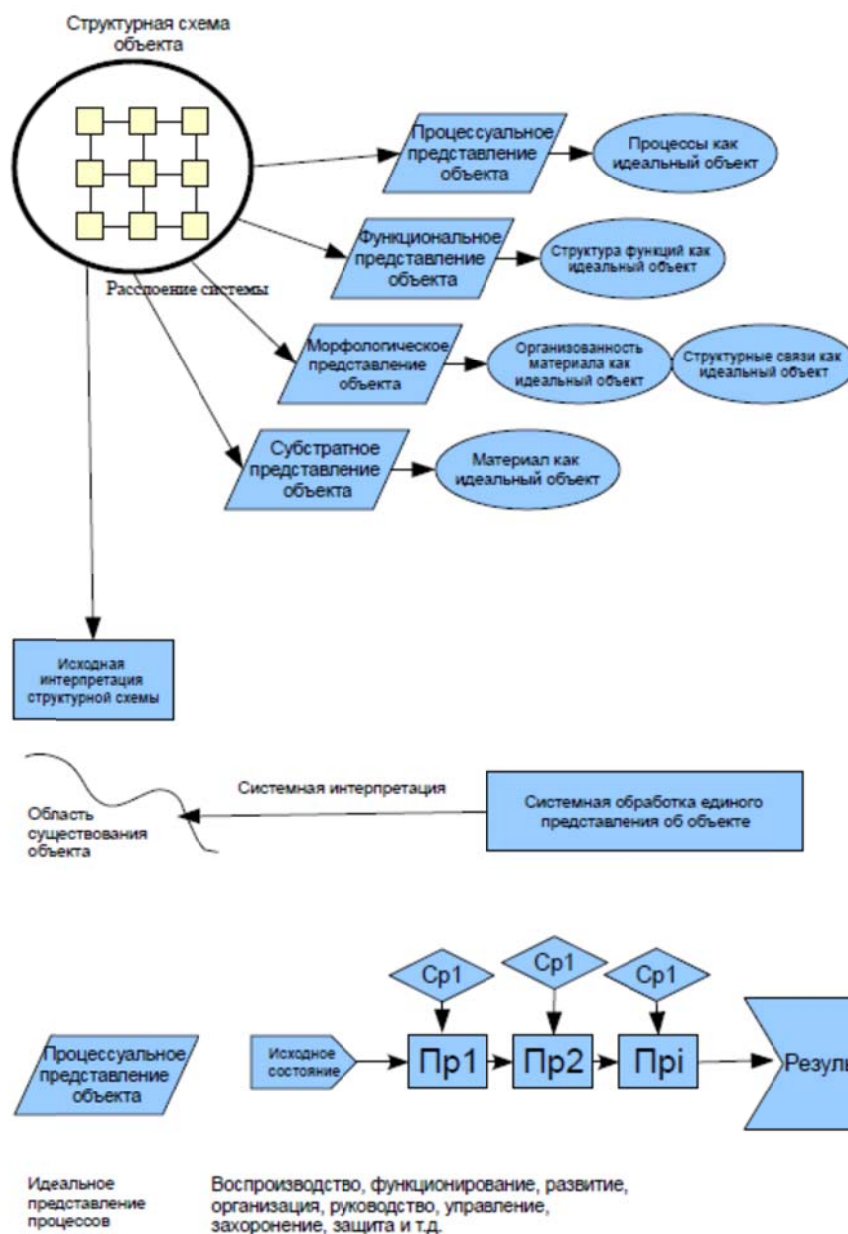


Рис. 2.- Системные представления объекта в рамках СМД методологии

Например, есть белок кальмодулин, который связывает кальций. Хорошо известна его структура. Но какие его свойства можно назвать сущностными? Мы полагаем, что его способность формировать 16 молекулярных форм с разным количеством связанных ионов кальция и образовывать комплексы с ферментами, ионными каналами, управляя их активностью, есть его сущностное проявление [64, 65].

Кальмодулин - это генератор 16 молекулярных форм с различным расположением их особых точек на концентрационной зависимости от кальция. Мы предлагаем ввести для его обозначения следующий знак (рис. 3).

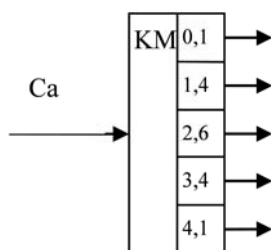


Рис. 3. Знак белка кальмодулина. Первое число – количество связанных ионов кальция, второе количество молекулярных форм с данным количеством связанных ионов кальция

За этим знаком стоят методы расчета его сущностных свойств [Котов]. Но подобным знаком можно обозначать все молекулы с определенным числом центров связывания лигандов, сущностные свойства которых будут подобны тем, что есть у кальмодулина. Но каждый раз, когда увидишь такой знак, будешь понимать, что делает элемент, обозначенный таким знаком.

Идеальную функциональную схему нужно строить в совершенно другой логике. Идеальную функциональная схема может быть построена в проектном (физиологическом) подходе. Любой процесс, не зависимо от того на каком материале он реализован, имеет стандартную функциональную схему (идеальную). Эта схема фиксирует, что нужно делать, чтобы работал механизм процесса при условии выполнения определенного качества, надежности, стабильности, экономичности и т.д.

И когда есть идеальная функциональная схема, ее можно связать с морфологической, отвечая на вопрос, какие элементы и связи между ними обеспечивают механизм каждой конкретной функции. Одним из инструментов здесь будет математика. Кроме этого, конструирование. Это конструирование будет основываться на предельном допущении, что в процессе эволюции на данном

материале живых систем реализована оптимальная (или близкая к ней конструкция).

Например, у активно движущихся за счет работы ресничек клеток, в зависимости от их экологической ниши, должна быть реализована функция преодоления механических препятствий. Чтобы это делать, нужно скоординировать во времени работу механизма, управляющего частотой и направлением эффективного удара ресничек. Конкретика - у парамеций в механизм реализации этой функции входит реакция избегания. Клетка, столкнувшись с препятствием, дает задний ход, затем разворачивается и уходит. Мы четко можем сказать каков механизм этой функции. Механорецептор, кальциевый спайк, кальмодулин и т.д. Все эти элементы есть в любой клетке эукариот, но на них строятся механизмы реализации других функций, где требуется сложная скоординированная во времени работа эффекторов клетки.

Для понимания поведения клеток нужно понимать процессы организации, руководства и управления исполнительными механизмами клетки (эффекторами). Вообще говоря, во многих случаях реализуется какая-то редукция этой схемы (может не быть руководства, обратной связи). Однако, в живом в целом ряде случаев реализуется именно механизм руководства, где есть разрешающий или запрещающий сигнал. Или генерируется целевая функция на верхних этажах, и она может меняться.

Например, сахар в крови ни одна клетка, кроме клеток мозга, не может закачивать в себя, пока не получит разрешающий (инсулиновый) сигнал. До трех с небольшим мм в крови сахар никто, кроме мозга, не трогает. Если его больше, то вырабатывается инсулин и остальные клетки начинают потреблять сахар.

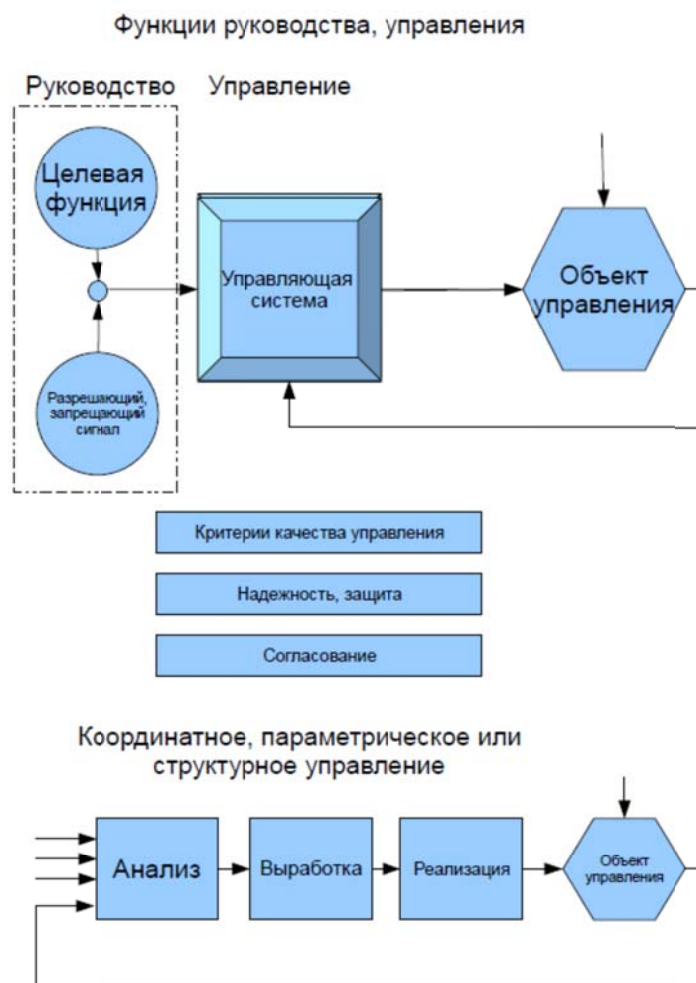


Рис. 4. Функциональная структура процессов организации, руководства и управления

1.2 Координатное, параметрическое или структурное управление

Объекты или только отдельные его части, требующие коррекции процессов в них, называются объектами управления.

Корректирующие воздействия из вне называются управляющими воздействиями.

Процессы выработки и осуществления управляющих воздействий называются управлениями.

Цель и вид управляющего воздействия должны быть согласованы с видом желаемого функционирования объекта (с целью функционирования).

Принципы управления и значения параметров управляющих воздействий должны быть согласованы со свойствами ОУ.

1.3 Основные классы задач и виды управления.

- 1) Задачи обеспечения заданного характера изменения координат или некоторых функций от них ОУ.
- 2) Задачи коррекции динамических свойств ОУ.
- 3) Задачи компенсации возмущений, действующих на процессы в ОУ.
- 4) Задачи координации взаимодействия элементов ОУ.

1.4 Структурное управление

- 1) Реконфигурации структуры объекта.
- 2) Аварийная защита.
- 3) Управление резервами.
- 4) Ремонт.

1.5 Технологический ремонт

Ремонт заменой.

Техническое обслуживание.

Функция технического диагностирования - информационная функция контуров структурного управления. Включает в себя следующие операции:

контроль изменений технического состояния,
поиск места изменения технического состояния,
оценки глубины (объема) изменений состояний объекта диагностирования.

В управляющих системах необходимо организовать два процесса:

процесс коррекции (взаимодействия) физических процессов в объекте управления, направленные на достижение желаемого функционирования (контуров координатного и параметрического управления),

процессы удержания и восстановления на необходимом уровне работоспособности аппаратных и программных средств, реализующих первый процесс, и оборудования объекта.

Жизненный цикл системы управления - разработка, реализация, эксплуатация, захоронение.

При разворачивании анализа необходимо выделить управляющий объект и объект управления, зафиксировать сигналы, которые поступают из внешней среды и с самого объекта управления.

Для того, чтобы управляющий объект и объект управления представить как систему его необходимо представить на 5 плоскостях (рис. 1). На первой нужно представить материал конструктора. Это представление основывается на том, что в нем даются свойства элементов конструктора. На второй – морфологию - структуру связей, на третьей принципиальной схеме представляется совмещение морфологической и функциональной структуры. Эта схема является основной рабочей схемой. На четвертой – структуру функций. На пятой структуру процессов. Кроме того, необходимо зафиксировать целевые функции управления, задающие смысл (целое), критерии качества функционирования, ограничения, условия эксплуатации, согласование различных элементов системы, характеристики надежности и живучести. Понятно, что если мы намерены исследовать таким образом некоторый биологический объект, то это означает, что мы чего-то из всего этого не знаем. Смысл системного представления объекта в том, что при неполном знании о системе, мы можем их восполнить гипотетически (проектно). Разработанный таким образом проект ложится в основу программы исследований нашего объекта.

При системном анализе необходимо понимать, что функциональные структуры не могут быть получены эмпирически. Они могут быть получены, исходя из назначений объекта управления, точнее, целей его функционирования, представления его основных свойств, условий и режимов эксплуатации, взаимосвязи с другими объектами. На основе этого намечаются контуры функцио-

нальной структуры управляющей системы, выделяют ее важные свойства и их показатели. На этом этапе разрабатываются описания возможных вариантов функциональной структуры основных подсистем и соответственно управляющей системы в целом и намечаются направления их детального анализа. Активация функций и их связей может происходить только в рамках целого, задающего смысл функционирования.

Отвечая на вопрос, каков механизм реализации функциональной структуры на элементах конкретного биомолекулярного конструктора, который сложился эволюционно (значит во многом случайно), мы можем спроектировать механизм реализации этой функциональной структуры на базе уже описанных элементов и связей между ними и элементами, которые еще предстоит обнаружить. Поскольку уже обнаруженных элементов конструктора может и не хватать для реализации функций, мы можем гипотетически предполагать существование дополнительных элементов.

То есть мы можем спроектировать, сконструировать механизм реализации функций, имея определенные представления об элементах конструктора, которые могут быть описаны хорошо, или о них может быть пока неизвестно ничего. При этом свойства элементов и связей между ними будут диктоваться функциональной структурой. Это же в свою очередь должно быть использовано при разработке программы исследований.

Этим дополняются исследования в рамках более полного представления о системе. После такого проектирования необходимо будет провести большой объем эмпирических работ по выявлению реально существующих элементов с необходимыми свойствами и связями между ними, модельному исследованию свойств обнаруженных элементов и модулей.

Для того, чтобы работа по проектированию (конструированию) была эффективной, необходимо иметь описание элементов конструктора, которые уже выявлены. Прежде всего, нужно знать свойства этих элементов, которые могут быть получены эмпирически или теоретически с применением математического

моделирования. При проведении такой работы частично заполняется плоскость материала.

Для того, чтобы переходить далее к морфологической структуре необходимо отвечать, каков механизм реализации функциональной структуры на элементах и уже выявленных связях молекулярного конструктора. При таком анализе хорошо иметь описание (свойства) модулей, входящих в конструктор. И здесь опять полный системный подход может помочь обнаружить еще не выявленные модули и предсказать свойства этих модулей.

Для того, что бы наши рассуждения были четкими, введем некоторые определения.

Элемент - объект, который не возможно или не требуется при данном анализе расчленять на составные части. Структуры системы могут подразделяться на процессуальные, функциональные, принципиальные, морфологические и структура материала.

Функциональный элемент - это элемент, выполняющий определенную функцию, которая может быть реализована вещественно, а также и за счет алгоритма.

Вещественный элемент – вещественная реализация одного или нескольких функциональных элементов.

Морфологический элемент – представляет собой конструктивно завершенную реализацию одного или несколько вещественных элементов, выполненный с учетом заданных условий эксплуатации, технического обслуживания, энергетического питания и пространственного размещения.

Для того, чтобы понимать как работает та или иная бимолекулярная структура, управляющая клеточной активностью, необходимо ее представить как систему.

На рис. 4 представлена схема системного представления управляющего объекта. В этой схеме намечаются общие контуры системы исходя из целей ее

функционирования, анализа основных свойств и их показатели, условий и режимов эксплуатации.

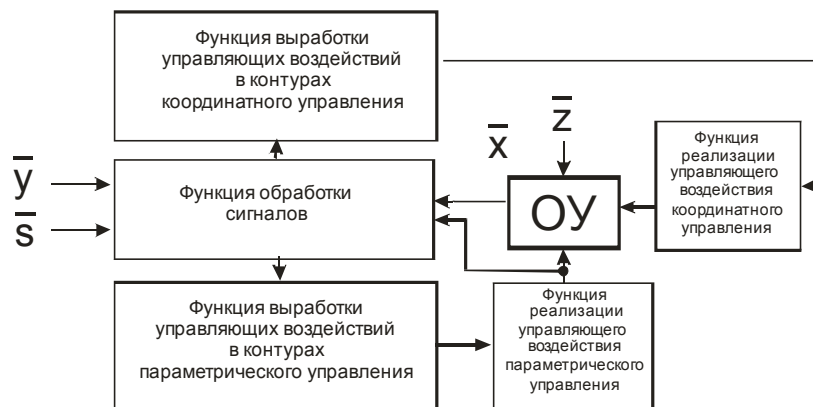


Рис. 5. Типичная функциональная структура контуров координатного и параметрического управления.

Функция выработки управляющих воздействий в контурах координатного управления
 Функция программирования режимов управления. Информационная функция ОУ.
 Функция реализации управляющего воздействия координатного управления
 Функция выработки управляющих воздействий в контурах параметрического управления

Для разворачивания системного анализа необходимо, прежде всего, провести границы, выделить рамку, в которой будет проводиться анализ. Любой живой объект может быть представлен как элемент планетарной экосистемы.

Анализ структур биомолекулярных систем, управляющих клеточной активностью. Жизнедеятельность любой клетки эукариот обеспечивается биомолекулярными системами. Существует множество различных типов клеток с самыми разными исполнительными (эффекторными) устройствами. Работа этих исполнительных устройств проявляется в различных видах активности клеток. Типология различных видов активности:

1. Двигательная активность клеток, направленная на решение определенных задач:
 - 1.1 Выход в пространства с оптимальными параметрами внешней среды, преодоление механических препятствий, поиск полового партнера и стыковка с ним, защитные реакции, пищевое поведение (у одноклеточных).
 - 1.2 Морфогенетические движения, движения, обеспечивающие защиту, движения, обеспечивающие поиск и устранение неполадок, ростовые движения, движения сократимых клеток (гладкомышечных, перистальтика, сердечной мышцы, клапанов, сфинктеров, скелетной мускулатуры, и т.д.).
2. Секреторная активность.
3. Пролиферативная активность.

1.7 Молекула L с 4 одинаковыми независимыми центрами связывания

Для примера рассмотрим молекулу с 4 одинаковыми независимыми центрами связывания. При $n = 4$ образуется 16 молекулярных форм KM_i . Одна молекулярная форма без связанных молекул лиганда, 4 с одним связанным лигандом, 6 с двумя связанными лигандами, 4 с тремя связанными лигандами и одна с 4 связанными лигандами. Обозначим через KM_0 общую концентрацию наших молекул. Пусть равновесные константы диссоциации будут K . Введем безразмерную концентрацию лиганда $x = u/K$, безразмерную концентрацию молекулярных форм нашей молекулы $km_i = KM_i/KM_0$ и безразмерное время $\eta = t \cdot k^-$. Выражение для стационарной концентрации различных молекулярных форм km_i будет:

$$km_i(x) = \frac{x^i}{(1+x)^4}, \quad (1.1)$$

где $x = u/K$.

На рис. 3.1 дан график зависимости концентрации различных молекулярных форм km_i , связавших i молекул лиганда, от концентрации лиганда x .

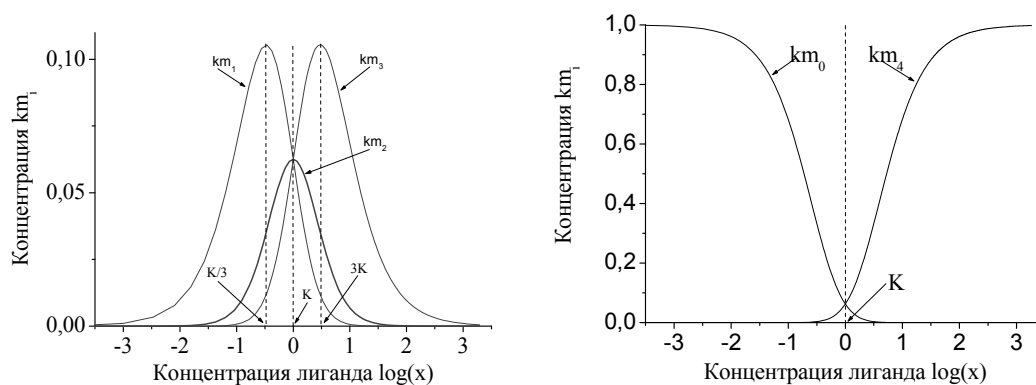


Рис. 3.1. Зависимость концентрации молекулярных форм $km_i = KM_i/KM_0$ от концентрации лиганда $x = u/K$ для молекулы с 4 одинаковыми независимыми центрами связывания

Для динамики изменения концентрации молекулярных форм km_i при скачке концентрации лиганда от x_0 к x_1 :

$$km_i = \left(p^1(x, \eta) \right)^i \cdot \left(p^0(x, \eta) \right)^{4-i},$$

$$p^0(x, \eta) = \frac{1}{(1+x_1)} - \left(\frac{1}{(1+x_1)} - \frac{1}{(1+x_0)} \right) \cdot \exp\left(-\frac{\eta}{x_1+1} \right),$$

$$p^1(x, \eta) = \frac{x_1}{(1+x_1)} - \left(\frac{x_1}{(1+x_1)} - \frac{x_0}{(1+x_0)} \right) \cdot \exp\left(-\frac{\eta}{x_1+1} \right). \quad (1.2)$$

Максимальные значения концентрации молекулярных форм km_i будут при концентрациях лиганда $u_1^{\max} = K/3$, $u_2^{\max} = K$, $u_3^{\max} = 3 \cdot K$. Амплитуды максимальных значений будут $KM_1^{\max} = KM \cdot 0.105$, $KM_2^{\max} = KM \cdot 0.063$, $KM_3^{\max} = KM \cdot 0.105$.

На рис. 3.2 представлена динамика изменения концентрации молекулярных форм km_i при скачке концентрации от x_0 к x_1 .

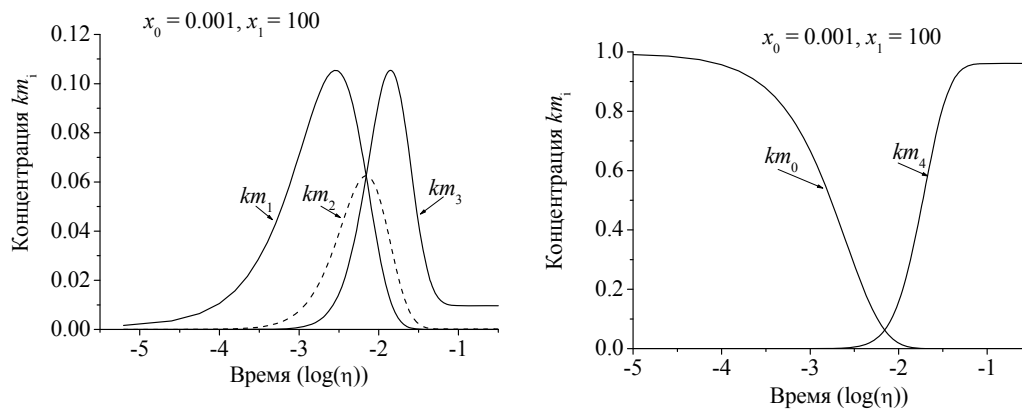


Рис. 3.2. Динамика изменения концентрации молекулярных форм km_i молекулы, имеющей 4 одинаковых независимых центра связывания лиганда, при скачке концентрации лиганда от x_0 к x_1 . Время $\eta = k^- \cdot t$

Продифференцируем формулы (1.2) по η , приравняем нулю и найдем время η_i^{\max} , при котором молекулярные формы km_i достигают своих максимальных значений:

$$\begin{aligned}
\eta_1^{\max} &= \frac{1}{x_1 + 1} \ln \left(\frac{4 \cdot (x_1 - x_0)}{(1 + x_0) \cdot (3 \cdot x_1 - 1)} \right), \\
\eta_2^{\max} &= \frac{1}{x_1 + 1} \ln \left(\frac{2 \cdot (x_1 - x_0)}{(1 + x_0) \cdot (x_1 - 1)} \right), \\
\eta_3^{\max} &= \frac{1}{x_1 + 1} \ln \left(\frac{4 \cdot (x_1 - x_0)}{(1 + x_0) \cdot (x_1 - 3)} \right).
\end{aligned} \tag{1.3}$$

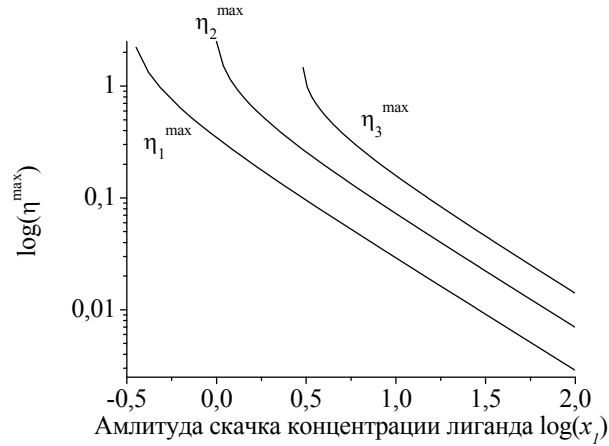


Рис. 3.3. Зависимость времени η_i^{\max} , когда концентрации молекулярных форм km_i достигают максимальных значений, от амплитуды скачка концентрации лиганда $x_1 = u_1/K$

На рис. 3.3 представлена зависимость времени η_i^{\max} , когда молекулярные формы достигают своих максимальных значений, от амплитуды скачка концентрации лиганда x_1 .

Из формул (1.3) видно, что η_1^{\max} не существует при $x_1 < 1/3$, η_2^{\max} при $x_1 < 1$ и η_3^{\max} при $x_1 < 3$. В этих случаях концентрации молекулярных форм не проходят через максимум, а монотонно достигают своих стационарных значений.

1.8 Управление молекулой с n независимыми центрами связывания лиганда активностью различных белков

Молекулы с несколькими центрами связывания лиганда управляют активностью ферментов, ионных каналов или каких либо других элементов клетки. Такое управление может быть реализовано несколькими механизмами. 1. Управляющая молекула (L) образует с управляемой молекулой (N) комплекс только тогда, когда с ней связаны лиганды по строго определенным центрам связывания (L_i). Когда образуется комплекс, все центры связывания лиганда с управляющей молекулой изменяют константы скорости ассоциации и диссоциации. После этого происходит изменение активности фермента, проводимости ионного канала и т. п. Когда же у управляющей молекулы изменяется количество связанных лигандов, происходит изменение констант скорости ассоциации и диссоциации реакции комплексообразования управляющей молекулы с управляемой. В общем случае это управление можно представить следующей схемой:

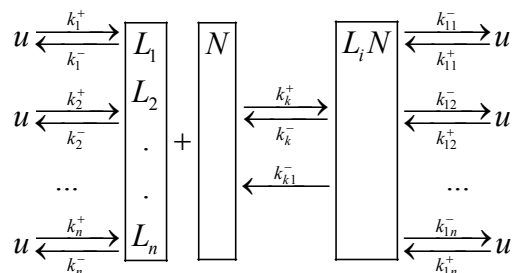


Рис. 3.4. Схема управления молекулой с n центрами связывания лиганда L_i активностью другой молекулы N

В общем случае образование комплекса управляющей молекулы с управляемой может приводить как к активации управляемой молекулы, так и к ее ингибированию.

Пусть N_0 – общее количество управляемых молекул, L_0 – общее количество управляющих молекул. Рассмотрим предельно упрощенный вариант при $L_0 \gg N_0$ и, когда после образования комплекса с управляемой молекулой все

центры связывания лиганда на управляющей молекуле (L_i) блокируются. В этом случае $k_{1i}^+ = 0, k_{1i}^- = 0, k_{1k}^- = 0$. Кроме того, максимальная константа времени образования комплекса лиганда с управляющей молекулой $\max(\tau_i)$ намного меньше константа времени образования комплекса управляющей молекулы с управляемой молекулой $\tau_k \max(\tau_i) \ll \tau_k$.

В этом случае процесс управления будет описываться выражениями для последовательных реакций комплексообразования лиганда с управляющей молекулой и управляющей молекулой с управляемой. Стационарная концентрация управляемых молекул, связавших управляющую, будет:

$$L_i N(L_i(u)) = N0 \cdot \frac{L_i(u)}{K_k + L_i(u)} = N0 \cdot \frac{L0 \cdot \frac{u^i \cdot \prod_{j=n-j}^n K_j}{\prod_{j=1}^n (K_j + u)}}{K_k + L0 \cdot \frac{u^i \cdot \prod_{j=n-j}^n K_j}{\prod_{j=1}^n (K_j + u)}}. \quad (1.4)$$

Кинетика изменения концентрации активных молекул при скачке концентрации лиганда от u_0 к u_1 будет:

$$L_i N(L_i(u, t)) = N0 \cdot \left(\frac{L_i(u_1)}{K_k + L_i(u_1)} - \left(\frac{L_i(u_1)}{K_k + L_i(u_1)} - \frac{L_i(u_0)}{K_k + L_i(u_0)} \right) \right) \cdot \exp\left(-\frac{t}{\tau_k}\right), \quad (1.5)$$

$$\tau_k = \frac{1}{k_k^+ \cdot L_i(u_1) + k_k^-},$$

где $K_k = k_k^- / k_k^+$.

В этом случае значения концентраций лиганда u^{\max} , при которых молекулярные формы N будут достигать максимальных (при активации) и минимальных (при ингибировании) значений, найдем из выражения:

$$L_i N(L_i(u))'_u = N0 \cdot \frac{K_k}{(K_k + L_i(u))^2} \cdot (L_i(u))'_u = 0.$$

Тогда для управляемой молекулы, которая управляется молекулой с n независимыми одинаковыми центрами связывания будет, когда с ней связано i молекул лиганда, максимальная (при активации) и минимальная (при ингибировании) активность будет при концентрации лиганда:

$$u^{\max} = \frac{K \cdot i}{n - i}, \quad i = 1, 2, \dots, n - 1, \quad (1.6)$$

где K равновесная константа диссоциации реакции комплексообразования лиганда с управляющей молекулой, n = количество центров связывания, i = количество лигандов у управляющей молекулы в активной форме. При этих значениях концентрации лиганда концентрация активных управляемых молекул будет (при активации):

$$L_i N^A(L_i(u)) = N_0 \cdot \frac{1}{k_k \cdot \frac{n^n}{i^i \cdot (n-i)^{n-i}} + 1},$$

(при ингибировании):

$$L_i N^{IN}(L_i(u)) = N_0 \cdot \frac{k_k \cdot \frac{n^n}{i^i \cdot (n-i)^{n-i}}}{k_k \cdot \frac{n^n}{i^i \cdot (n-i)^{n-i}} + 1}, \quad (1.7)$$

где $k_k = K_k / L_0$.

На рис. 3.5 приведена зависимость концентрации активных молекул N_i от концентрации лиганда $x = u/K$ при различных равновесных константах диссоциации реакции комплексообразования (k_k) L_i с N в случае, когда управление происходит молекулярной формой с одним связанным лигандом молекулой с 4 центрами связывания.

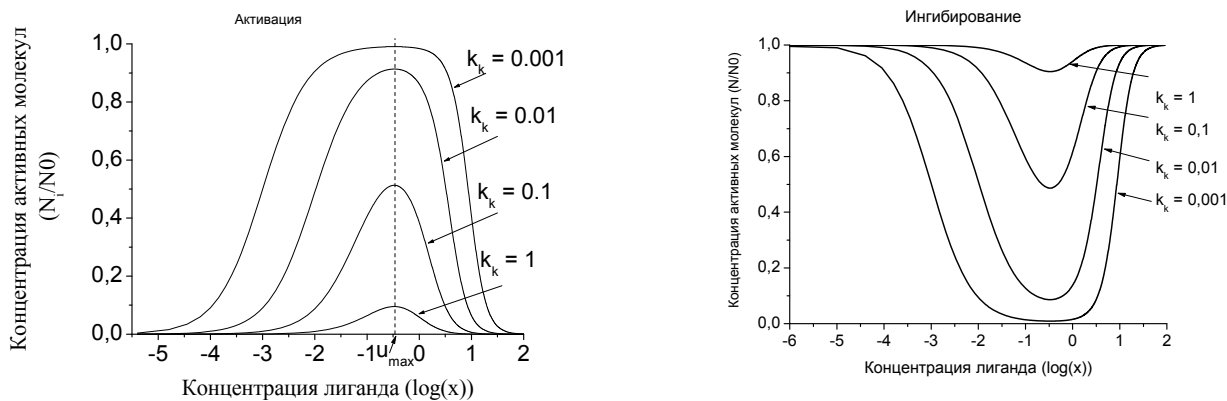


Рис. 3.5. Зависимость концентрации активных молекул N_i от концентрации лиганда $x = u/K$ при различных равновесных константах диссоциации реакции комплексообразования L_i с $N(k_k)$ в случае, когда управление происходит молекулярной формой с одним связанным лигандом молекулой с 4 центрами связывания. $k_k = K_k/L0$

При управлении насыщенной формой с n лигандами и формой с 0 лигандов, значение концентрации лиганда, при которой будет достигаться полумаксимальная активность, будет:

$$u_n^{0.5} = K \cdot \frac{1}{\left(2 + \frac{1}{k_k}\right)^{\frac{1}{n}} - 1}, \quad (1.8)$$

$$u_0^{0.5} = K \cdot \left[\left(2 + \frac{1}{k_k}\right)^{\frac{1}{n}} - 1 \right],$$

где $k_k = K_k/L0$.

На рис. 3.8 дана зависимость концентрации активных молекул N_i от концентрации лиганда $x = u/K$ при различных равновесных константах диссоциации реакции комплексообразования L_i с $N(k_k)$ в случае, когда управление происходит молекулярной формой с 0 и n связанными лигандами молекулой с 4 центрами связывания. $k_k = K_k/L0$. Рассмотрим вариант, когда управляющая молекула непосредственно связана с управляемой молекулой. Пусть молекула переходит

из пассивного состояния в активное с определенными значениями констант скоростей. Но после того как с конкретными центрами свяжутся лиганды, у молекулы мгновенно изменяются константы скоростей перехода в активное состояние.

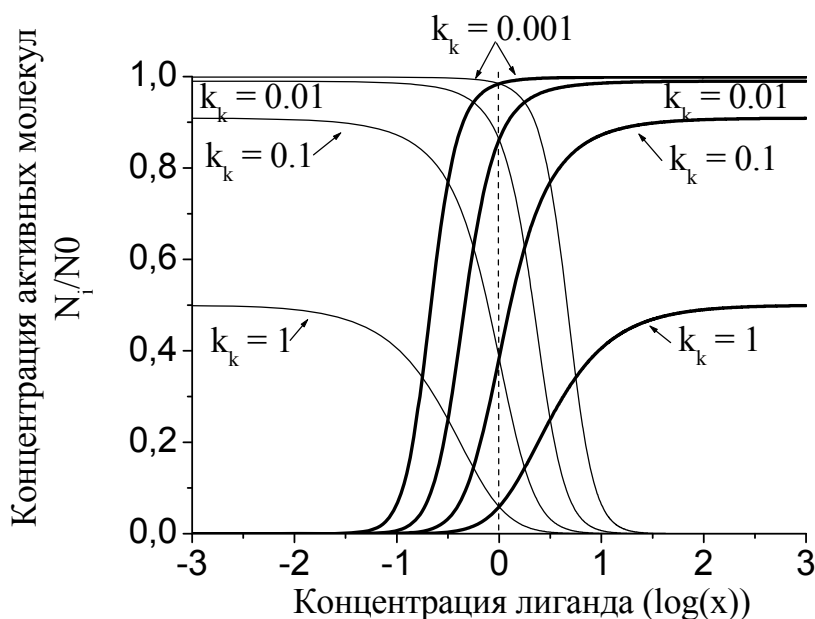


Рис. 3.8. Зависимость концентрации активных молекул N_i от концентрации лиганда $x = u/K$ при различных равновесных константах диссоциации реакции комплексообразования L_i с N (k_k) в случае, когда управление происходит молекулярной формой с 0 связанных лигандов (тонкие линии) и с n связанными лигандами (жирные линии) молекулой с 4 центрами связывания. $k_k = K_k/L_0$

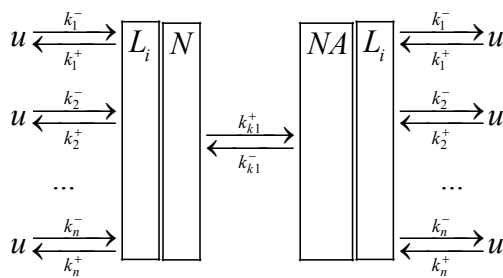


Рис. 3.9. Схема, когда управляющая молекула связана с управляемой

В этом случае переходы между активным состоянием и пассивным будет задаваться 4 константами скоростей в начальном состоянии (k_{k0}^-, k_{k0}^+), после связывания определенными центрами лигандов (k_{k1}^-, k_{k1}^+). Для простоты рассмотрим случай, когда у молекулы изначально очень мала вероятность перехода в активное состояние, и этой вероятностью можно пренебречь. Вероятность того, что молекула находится в активном состоянии p_a , будет:

$$p_a = \frac{k_{k1}^+}{k_{k1}^+ + k_{k1}^-}. \quad (1.9)$$

Тогда для доли концентрации молекул, находящихся в активном состоянии можно записать:

$$L^{(j)} = p_a \cdot L_0 \cdot \prod_{i=1}^n p_i^{k_i}. \quad (1.91)$$

В этом случае все, что было получено ранее для молекулы с n центрами связывания лиганда: стационары, кинетика, положения максимумов, амплитуды, полумаксимальные значения, влияние конкурента, будет справедливо для молекулы с таким управлением с учетом множителя p_a для амплитуд.

Управляемая молекула активируется только после того, как с управляющей молекулой свяжется определенное количество лигандов и эти лиганды блокируются в активном состоянии управляемой молекулой.

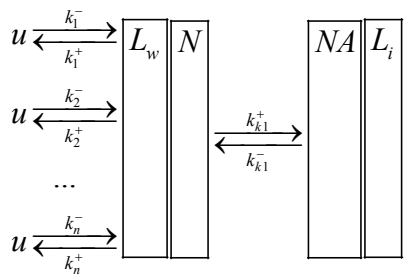


Рис. 3.10. Схема управления, когда после перехода в активное состояние происходит блокировка центров связывания управляющей молекулы

В этом случае появляется особое состояние NA , в котором нет обмена лигандами между молекулами NA и внешней средой (ловушка). Динамику перехода в молекулярной формы в активное состояние можно представить следующим выражением:

$$\frac{du_w N^0}{dt} = k_{k1}^+ \cdot u_w N - k_{k1}^- \cdot u_w N^0. \quad (1.92)$$

Стационарная концентрация активных молекул будет:

$$u_w N^0 = \frac{u_w N}{K_k}, \quad (1.93)$$

где $K_k = k_{k1}^- / k_{k1}^+$.

В этом случае уравнение сохранения общего количества молекул можно записать:

$$u_0 N + u_{11} N + u_{12} N + \dots + u_w N + \dots + u_n N + u_w N^0 = N0.$$

При такой схеме стационарная концентрация активных молекул в форме $u_w N^0$ будет

$$u_w N^0 = N0 \cdot \frac{u^w \cdot \prod_{j=n-w}^n K_j}{u^w \cdot \prod_{j=n-w}^n K_j + K_k \cdot \prod_{j=1}^n (K_j + u)}. \quad (1.94)$$

Рассмотрим вариант, когда молекула управляется насыщенной формой с n связанными лигандами. В этом случае концентрация активных молекул будет:

$$u_n N^0 = N0 \cdot \frac{u^n}{u^n + K_k \cdot \prod_{j=1}^n (K_j + u)}. \quad (1.95)$$

Максимальная амплитуда при $u \rightarrow \infty$ будет

$$N_n^{\max} = N0 \cdot \frac{1}{1 + K_k}. \quad (1.96)$$

Соответственно, значение концентрации лиганда $u_n^{0.5}$, при котором будет полумаксимальная амплитуда:

$$u_n^{0.5} = K \cdot \left(\left(2 + \frac{1}{K_k} \right)^{\frac{1}{n}} - 1 \right)^{-1}. \quad (1.97)$$

Рассмотрим вариант, когда у молекулы 4 одинаковых центра связывания лиганда с равновесной константой диссоциации K , а в активную форму

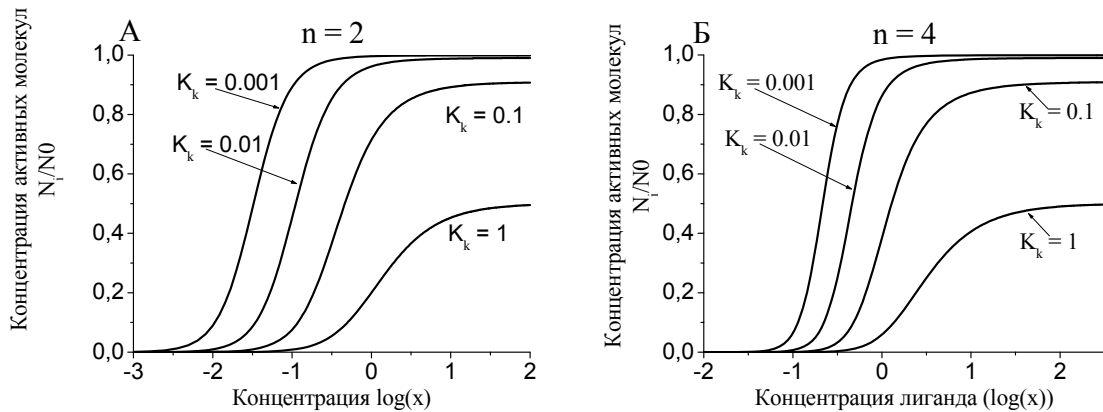


Рис. 3.11. Зависимость концентрации активных молекул N_i , которые управляются молекулой (рецептором) с (А) с двумя, (Б) с четырьмя центрами связывания лиганда от концентрации лиганда $x = u/K$ при различных константах скоростей перехода в случае, когда управление происходит молекулярной формой с двумя (А) и четырьмя (Б) связанными лигандами. $K_k = k_k^- / k_k^+$, $K_j = 1$

переходит молекула, связавшая w молекул лиганда. В этом случае для стационарной концентрации активных молекул $x_w N^0$ можно записать:

$$x_w N^0 = N^0 \cdot \frac{x^w}{x^w + K_k \cdot (1 + x)^4}, \quad (1.98)$$

где $x = u/K$.

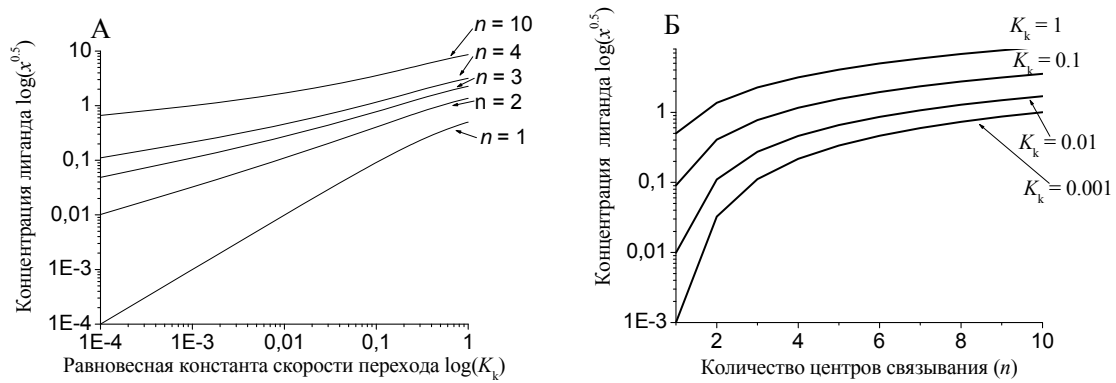


Рис. 3.12. Зависимость концентрации лиганда $x^{0.5} = u_n^{0.5}/K$, при которой достигается полумаксимальное значение концентрации активных молекул от равновесной константы скорости перехода $K_k = k^- / k^+$ (А) при разном количестве центров связывания у управляющей молекулы (n), и (Б) от количества центров связывания при разных равновесных константах скорости перехода $K_k = k^- / k^+$

Значения концентрации лиганда, при которых концентрации активных молекул будут достигать максимальных амплитуд, будут такими же, как и для концентрации молекул с тем же количеством связанных лигандов:

$$u_w^{\max} = \frac{K \cdot w}{n - w}, \quad w = 1, 2, \dots, n - 1. \quad (1.99)$$

Значения амплитуд $(x_w N^0)^{\max}$ будут при концентрации лиганда u_w^{\max} :

$$(x_w N^0)^{\max} = N^0 \cdot \frac{1}{K_k \cdot \left(K \cdot \frac{n}{n - w} \right)^{n-w} + 1}. \quad (1.991)$$

Связывание лиганда такой молекулой будет описываться выражением:

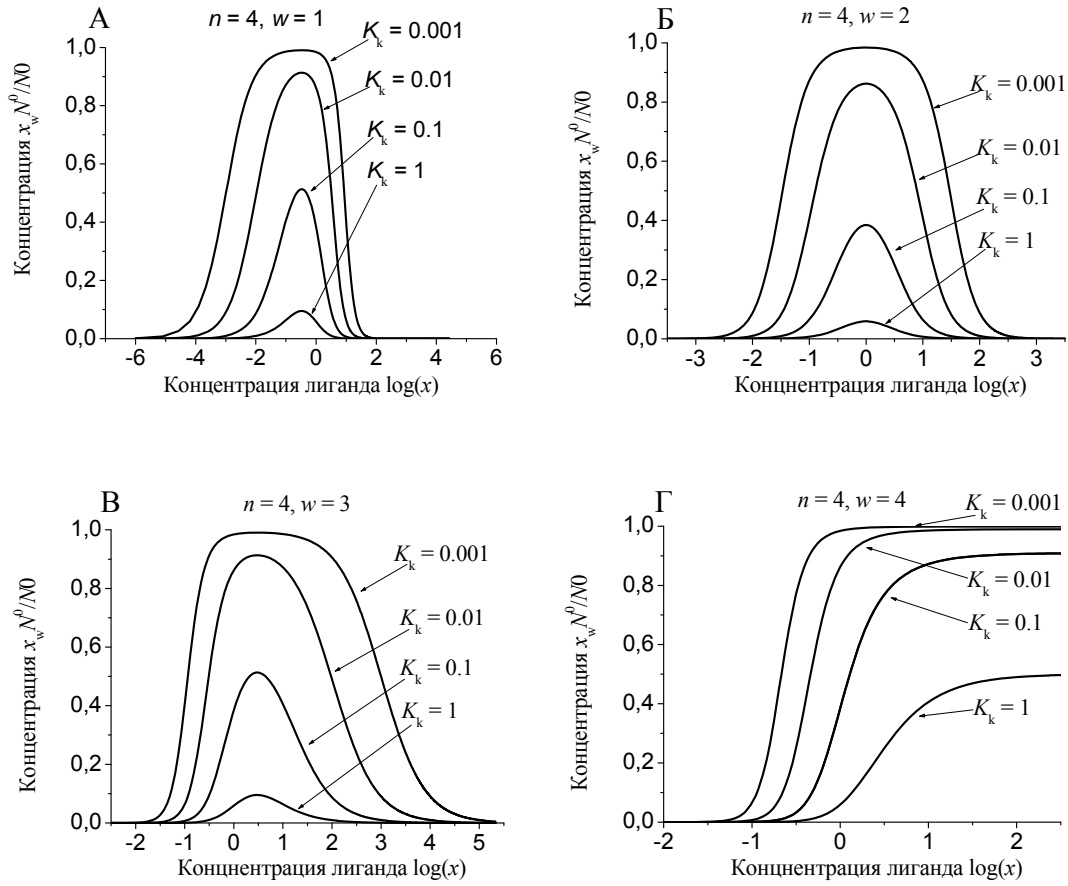


Рис. 3.14. Стационарные зависимости концентрации активных форм управляемой молекулы $x_w N^0 / N_0$ от концентрации лиганда $x = u/K$ при разных значениях K_k

$$Ls(u) = N_0 \cdot \sum_{w=1}^n \frac{w \cdot \binom{w}{n} \cdot u^w \cdot \prod_{j=n-w}^n K_j}{\frac{1}{K_k} \cdot u^w \cdot \prod_{j=n-w}^n K_j + \prod_{j=1}^n (K_j + u)} + \frac{w \cdot u^w \cdot \prod_{j=n-w}^n K_j}{u^w \cdot \prod_{j=n-w}^n K_j + K_k \cdot \prod_{j=1}^n (K_j + u)}. \quad (1.992)$$

На рис. 8.9 дана зависимость количества связанного лиганда молекулой с n центрами связывания от концентрации лиганда в случаях, когда в активную форму переходит молекула, связавшая w лигандов.

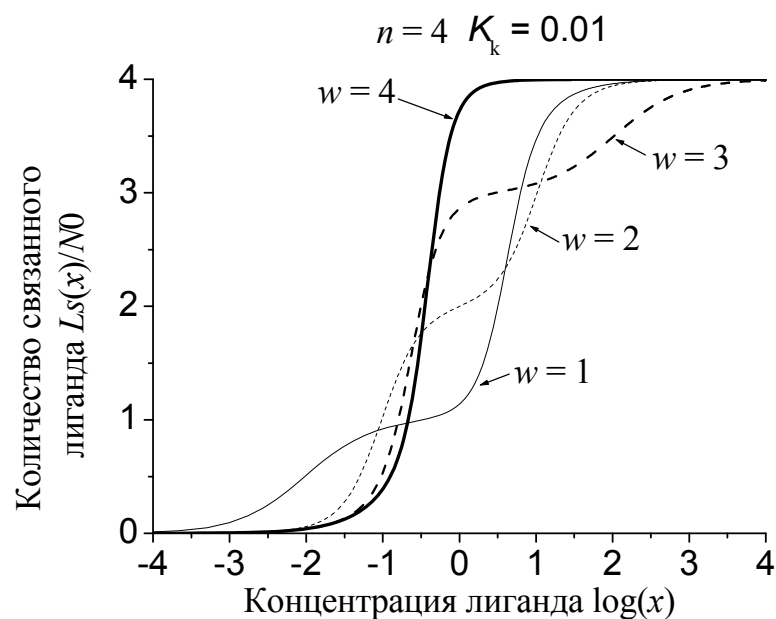
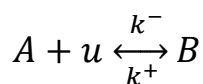


Рис. 3.15. Зависимость количества связанного лиганда $Ls(x)$ молекулой, имеющей n центров связывания, от концентрации лиганда $x = u/K$ в случаях, когда в активную форму переходит молекула, связавшая w лигандов. При этом после перехода в активное состояние происходит блокировка центров связывания управляющей молекулы

Рассмотрим динамику перехода молекулы в активную форму при скачке концентрации лиганда от u_0 к u_1 .

Пусть молекула переходят в активное состояние B после того, как с ней связалось w молекул лиганда.



$$\frac{dA}{dt} = -k^+ \cdot A + k^- \cdot B,$$

$$A + B = A0.$$

Глава 2. Метаболизм циклических монофосфатов

Когда активность фермента модулируется кальцием через кальмодулин, происходят две последовательных реакции комплексообразования. Первая —

кальция с кальмодулином, вторая кальмодулина с ферментом. Причем, при образовании комплекса кальмодулина с активируемым белком, может происходить изменение констант скоростей реакции комплексообразования кальция с кальмодулином. Кальмодулин имеет четыре независимых центра связывания кальция, два центра с высокой кооперативностью и два с низкой [64] Для простоты пренебрежем различиями в константах связывания кальция с кальмодулином. Допустим, все они одинаковы и не изменяются при образовании комплекса кальмодулина с белком. Для удобства введем нормирующий концентрацию кальция множитель $h = 10^{-6} M/L$. Положим, что все константы связывания кальция с кальмодулином для всех наших белков и всех центров связывания равны $10^{-6} M$.

Стационарная зависимость концентрация кальмодулина CM_i с i связанными ионами кальция будет [64]:

$$CM_i^P = CM_0 \cdot \frac{Ca^i \cdot (K_{Ca}^P)^{4-i}}{(K_{Ca}^P + Ca)^4} = CM_0 \cdot \frac{ca^i \cdot (k_{Ca}^P)^{4-i}}{(k_{Ca}^P + ca)^4} = CM_0 \cdot km_i^P \quad (2.1)$$

CM_0 - общая концентрация кальмодулина, K_{Ca}^P константа Михаэлиса реакции комплексообразования Ca с кальмодулином, когда он образуем комплекс с белком P, $ca = \frac{[Ca^{2+}]}{h}$, $km_i^P = \frac{ca^i \cdot (k_{Ca}^P)^{4-i}}{(k_{Ca}^P + ca)^4}$, $k_{Ca}^P = \frac{K_{Ca}^P}{h}$.

Если фермент управляется кальмодулином с определенным количеством связанных ионов кальция и у этого фермента один центр связывания кальмодулина, то зависимость активности фермента ($P(Ca)$) от концентрации Ca^{2+} будет [64]:

$$P(Ca) = P_0 \cdot \left(\frac{CM_i^P \cdot (1 - f_{st}^P)}{K_{CaM}^P + CM_i^P} + f_{st}^P \right), \quad (2.2)$$

где P_0 — общая концентрация фермента, K_{CaM}^P — константа Михаэлиса реакции комплексообразования кальмодулина с ферментом P, f_{st}^P - стационарный кальций кальмодулин независимый уровень активности фермента P.

В безразмерной форме это уравнение будет:

$$p(ca) = \frac{cm_i^P \cdot (1 - f_{st}^P)}{k_{CaM}^P + cm_i^P} + f_{st}^P, \quad (2.3)$$

где $p(ca) = \frac{[P(ca)]}{[P0]}$, $ca = \frac{[Ca^{2+}]}{h}$, $k_{CaM}^P = \frac{K_{CaM}^P}{[CM0]}$.

Уравнение (3.3) использовано нами при построении зависимости активности различных кальций кальмодулин зависимых ферментов от концентрации кальция.

2.1 Ферменты метаболизма циклического аденозинмонофосфата

В состав сигнальной системы эритроцитов входит модуль АСП (Рис. 3.1), состоящий из кальций ингибируемой кальмодулин зависимой аденилатциклазы тип АСП и фосфодиэстераз PDEs 2, 3A. PDEs 2, 3A - это кальций кальмодулин независимые PDEs, гидролизующие сАМР. Причем PDE₂ гидролизует сАМР и сGMP с одинаковой скоростью, а PDE3A ингибируется сGMP (для простоты мы это не учитывали) [5].

Активность этих ферментов определяет концентрацию циклического аденозинмонофосфата (сАМР). На рис. 3.1 представлена схема физико-химических процессов, входящих в модуль АСП.

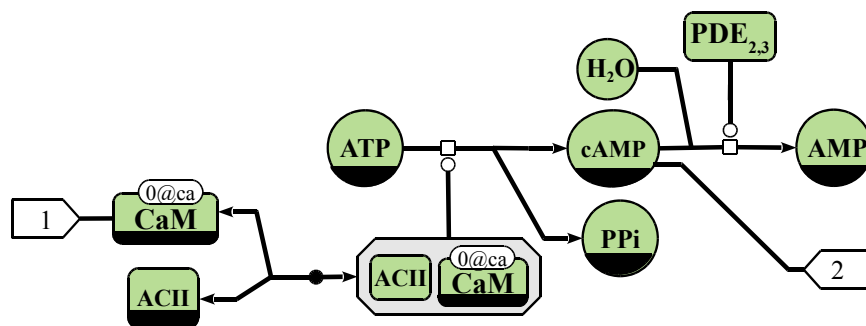


Рис. 2.1. Схема метаболизма сАМР в эритроците

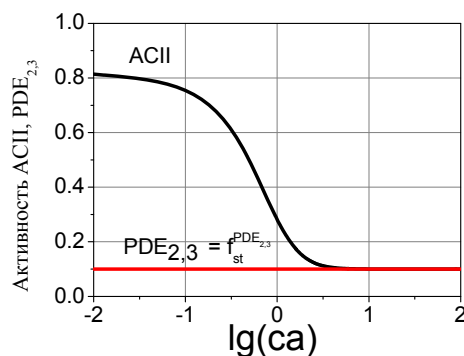


Рис. 2.2 - Зависимость активности $ACII, PDE_{2,3}$ от концентрации кальция

$ca = [Ca^{2+}] / h$. При следующих значениях параметров

$$k_{CaM}^{AC} = 0.25, f_{st}^{AC} = 0.1, f_{st}^{PDE_{2,3}} = 0.1, k_{Ca}^{AC} = 1$$

Зависимость активности АСII от концентрации кальция можно представить следующей функцией:

$$ac(ca) = \frac{cm_0^{AC} \cdot (1 - f_{st}^{AC})}{k_{CaM}^{AC} + cm_0^{AC}} + f_{st}^{AC} \quad (2.1.1)$$

где $ac(ca) = \frac{ACII^*(ca)}{[ACII0]}$, $[ACII0]$ – общая концентрация фермента АСII, $ACII^*$

концентрация активных молекул АСII, $cm_0^{AC} = \frac{(k_{Ca}^{AC})^4}{(k_{Ca}^{AC} + ca)^4}$, $k_{CaM}^{AC} = \frac{K_{CaM}^{AC}}{[CM0]}$, K_{CaM}^{AC} -

константа Михаэлиса реакции комплексообразования СМ с АСII, $k_{Ca}^{AC} = \frac{K_{Ca}^{AC}}{h}$,

K_{Ca}^{AC} - константа Михаэлиса реакции комплексообразования кальция с СМ, когда он образует комплекс с АСII, f_{st}^{AC} - кальций кальмодулин независимый уровень активности АСII.

Фосфодиэстеразы сAMP (PDE_2, PDE_3) эритроцита кальций кальмодулин независимые. Пусть

$$f_{st}^{PDE_{2,3}} = \frac{[PDE0_2] + [PDE0_3]}{[ACII0]} \quad (2.1.2)$$

будет характеристикой активности фосфодиэстераз, гидролизующих сAMP.

2.2 Ферменты метаболизма циклического гуанозинмонофосфата

В отличие от AC, которая локализована на плазматической мембране, GCs, синтезирующая cGMP из GMP находится в растворимом состоянии. Гуанилатциклаза эритроцитов активируется NO [21, 44]. В эритроцитах кальций кальмодулин зависимая NO синтаза [11, 17, 37, 41, 63]. Кроме того, есть PDE₂, которая гидролизует сAMP и сGMP с одинаковой скоростью [5, 53]

На рис. 3.3 представлена схема физико-химических процессов, определяющих концентрацию сGMP.

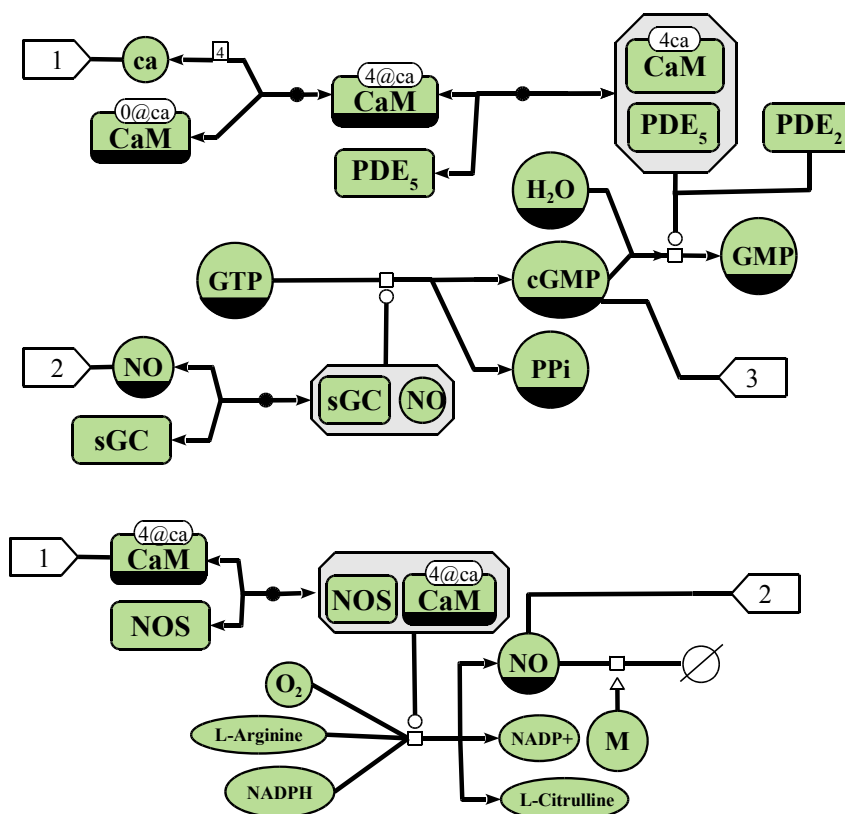


Рис. 2.3. Схема метаболизма циклического гуанозинмонофосфата
сGMP и NO

Глава 3. Метаболизм NO

В эритроцитах кальций кальмодулин зависимая NOS синтаза, которая активируется кальмодулином с 4 связанными ионами кальция [10, 37, 41]. В квазистационарном приближении скорость изменения концентрации NO в эритроците будет:

$$\frac{d[NO(ca)]}{dt} = d_1 \cdot [NOS(ca)] \cdot \frac{[LARG]}{K_{LARG}^{NOS} + [LARG]} - d_2 \cdot [IN] \cdot \frac{[NO(ca)]}{K_{NO}^{IN} + [NO(ca)]} - d_3 \cdot (NO(ca) - NO_{ST}), \quad (3.1)$$

где K_{LARG}^{NOS} — константа Михаэлиса ферментативной реакции образования NO из L-аргинина, при участии кислорода и NADPH. Будем полагать, что кислород и NADPH в эритроците в избытке. K_{NO}^{IN} — константа Михаэлиса реакции нейтрализации NO, $[LARG]$ — концентрация L — аргинина, $[IN]$ концентрация ингибиторов NO, NO_{ST} — стационарная концентрация NO в плазме крови, d_1, d_2 - константы скоростей образования продукта, $d_3 = \frac{S_{\text{ЭР}} \cdot D_{NO}}{V_{\text{ЭР}} \cdot d}$, D_{NO} - константа диффузии NO в мембране, d - толщина мембраны. Период полураспада NO или ее комплексов в разных тканях организма колеблется от долей секунды в присутствии оксигемоглобина до десятков секунд. Концентрации NO в клетках, как сигнальной молекулы менее 5 нМ [32].

В безразмерной форме уравнение (3.1) будет:

$$\frac{d[no(ca)]}{d\tau} = g_1 \cdot nos(ca) \cdot a - g_2 \cdot in \cdot \frac{no(ca)}{1 + no(ca)} - g_3 \cdot (no(ca) - no_{ST}). \quad (3.2)$$

Используя уравнение (3.2), для зависимости активности NOS от концентрации кальция можно записать:

$$nos(ca) = \frac{cm_4^{NOS} \cdot (1 - f_{st}^{NOS})}{k_{CaM}^{NOS} + cm_4^{NOS}} + f_{st}^{NOS}, \quad (3.3)$$

$$cm_4^{NOS} = \frac{ca^4}{(k_{Ca}^{NOS} + ca)^4}, \quad (3.4)$$

где $\tau = t \cdot r$, $no(ca) = [NO(ca)] / K_{NO}^{IN}$, $no_{ST} = [NO_{ST}] / K_{NO}^{IN}$, $in = [IN] / K_{NO}^{IN}$, $nos(ca) = [NOS(ca)] / K_{NO}^{IN}$, $k_{CaM}^{NOS} = K_{CaM}^{NOS} / [CM0]$, $k_{Ca}^{NOS} = K_{Ca}^{NOS} / h$, $g_1 = d_1 / r$, $g_2 = d_2 / r$, $g_3 = d_3 / r$, $a = \frac{[LARG]}{K_{ARG} + [LARG]}$.

Найдем зависимость стационарной концентрации NO в эритроците от концентрации кальция. Используя (3.3), положим:

$$p_1 \cdot nos(ca) - p_2 \cdot in \cdot \frac{no(ca)}{1 + no(ca)} - (no(ca) - no_{ST}) = 0, \quad (3.5)$$

Решая уравнение (3.5), получим:

$$d_1(ca) = p_1 \cdot nos(ca) - p_2 \cdot in + (no_{ST} - 1), \quad (3.6)$$

$$d_2(ca) = p_1 \cdot a \cdot nos(ca) + no_{ST}, \quad (3.7)$$

$$no(ca) = 0.5 \cdot \left(d_1(ca) + \left(d_1(ca)^2 + 4 \cdot d_2(ca) \right)^{0.5} \right), \quad (3.8)$$

$$\text{где } p_1 = \frac{d_1 \cdot a \cdot V_{\text{ЭП}} \cdot d}{S_{\text{ЭП}} \cdot D_{\text{NO}}}, p_2 = \frac{d_2 \cdot V_{\text{ЭП}} \cdot d}{S_{\text{ЭП}} \cdot D_{\text{NO}}}.$$

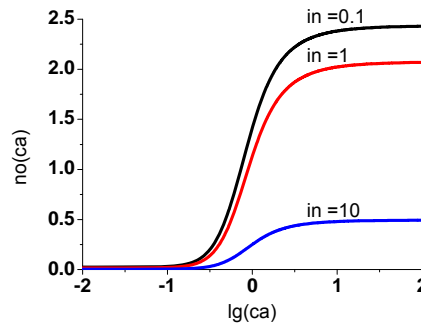


Рис. 2.4. Зависимость стационарной концентрации $no = [NO] / K_{NO}^{IN}$ от концентрации кальция $ca = [Ca^{2+}] / h$. $no_{ST} = 0$, $p_1 = 2.6$, $p_2 = 0.6$, $a = 1$ при разных концентрациях ингибитора $in = 0.1, 1, 10$

Как мы уже говорили в эритроцитах sGC, которая активируется при образовании комплекса с NO. Для зависимости активности sGC от концентрации кальция можно записать:

$$sgc(ca) = \frac{no(ca) \cdot (1 - f_{st}^{GC})}{k_{NO}^{GC} + no(ca)} + f_{st}^{GC}, \quad (3.9)$$

где $sgc(ca) = [sGC^*] / [sGC]$, $k_{NO}^{GC} = K_{NO}^{GC} / K_{NO}^{IN}$, f_{st}^{GC} - стационарный NO независимый уровень активности sGC.

По сути, зависимость активности sGC от концентрации кальция целиком обусловлена зависимостью активности NOS от концентрации кальция.

В эритроците кальций кальмодулин зависимая PDE_5 , которая активируется кальмодулином с 4 ионами кальция [53]. Запишем зависимость активности кальций кальмодулин зависимой PDE_5 в следующем виде:

$$pde_5(ca) = \frac{cm_4^{PDE_5} \cdot (1 - f_{st}^{PDE_5})}{k_{CaM}^{PDE_5} + cm_4^{PDE_5}} + f_{st}^{PDE_5}, \quad (3.10)$$

где, $pde_5(ca) = [PDE_5^*]/[PDE_5^0]$ $k_{CaM}^{PDE_5} = K_{CaM}^{PDE_5}/[CM^0]$, $cm_4^{PDE_5} = \frac{ca^4}{(k_{Ca}^{PDE_5} + ca)^4}$, $f_{st}^{PDE_5}$ - постоянный кальций кальмодулин независимый уровень активности PDE_5 .

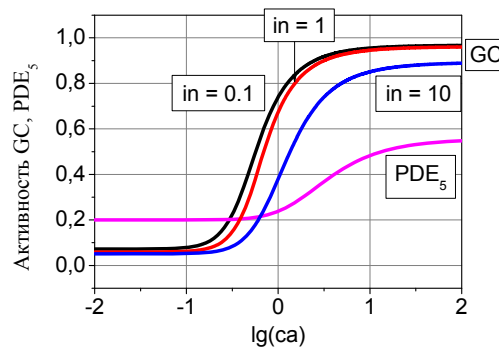


Рис. 2.5 - Зависимость активности GC, PDE_5 от концентрации кальция.

$k_{CaM}^{PDE_5} = 0.125$, $f_{st}^{PDE_5} = 0.2$, $f_{st}^{GC} = 0.05$, $\mu = 3$, при разных концентрациях ингибитора $in = 0.1, 1, 10$

Зная зависимость активности ферментов от концентрации кальция, найдем зависимость концентрации cAMP и cGMP от концентрации кальция.

В квазистационарном приближении для скоростей изменения концентрации циклических монофосфатов можно записать:

$$\begin{aligned} \frac{d[cAMP]}{dt} &= k_1 \cdot [ACH^*] \cdot \frac{[ATP]}{K_{ATP}^{AC} + [ATP]} - k_2 \cdot [PDE_{2,3}] \cdot \frac{[cAMP]}{K_{cAMP}^{PDE_{2,3}} + [cAMP]}, \\ \frac{d[cGMP]}{dt} &= k_3 \cdot [GC^*] \cdot \frac{[GTP]}{K_{ATP}^{GC} + [GTP]} - k_4 \cdot ([PDE_5^*] + [PDE_2]) \cdot \frac{[cGMP]}{K_{cGMP}^{PDE_{2,5}} + [cGMP]}, \end{aligned} \quad (3.11)$$

Решая эти уравнения, найдем стационарные зависимости концентрации циклических монофосфатов от концентрации кальция:

$$\begin{aligned}
camp(ca) &= \frac{ac(ca)}{\mu_{cAMP} - ac(ca)}, \\
cgmp(ca) &= \frac{sgc(ca)}{\mu_{cGMP} \cdot (pde_5(ca) + pde_2) - sgc(ca)},
\end{aligned}
\tag{3.12}$$

где $camp = [cAMP] / K_{cAMP}^{AC}$, $cgmp = [cGMP] / K_{cGMP}^{GC}$, $\mu_{cAMP} = \frac{k_2 \cdot [PDE_{2,3}0] \cdot (K_{ATP}^{AC} + [ATP])}{k_1 \cdot [AC110] \cdot [ATP]}$,

$$\mu_{cGMP} = \frac{k_4 \cdot [PDE_50] \cdot (K_{GTP}^{GC} + [GTP])}{k_3 \cdot [GC0] \cdot [GTP]}, pde_2 = \frac{[PDE_20]}{[PDE_50]}.$$

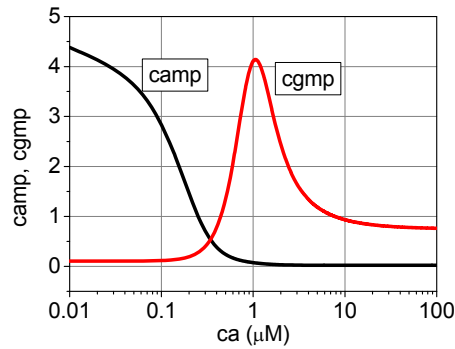


Рис. 2.6 - Расчетная зависимость концентрации циклических монофосфатов ($camp = [cAMP] / K_{ATP}^{AC}$, $cgmp = [cGMP] / K_{GTP}^{GC}$) в эритроците от концентрации кальция $ca = [Ca^{2+}] / h$

Глава 4. Фосфорилирование белков

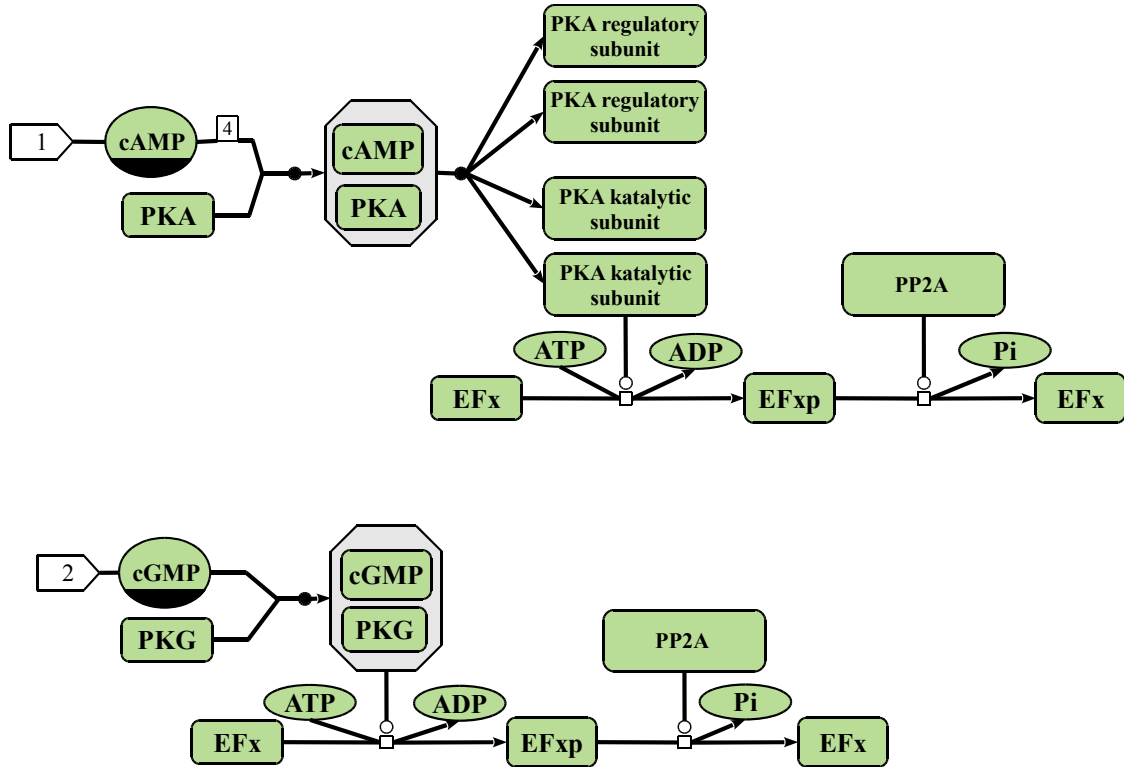


Рис. 4.1 Схема фосфорилирования группы белков (EF1, EF2, EF3), которые мы обозначили EFx, протеинкиназами PKA и PKG и дефосфорилирование фосфопротеинфосфатазой PP2A

Активность сАМР зависимой протеинкиназы – PKA определяется концентрацией сАМР. У PKA четыре центра связывания сАМР. Когда образуется комплекс PKA с сАМР протеинкиназа PKA распадается на четыре фрагмента, два из которых обладают ферментативной активностью [7]. Тогда:

$$PKA^* = 2 \cdot [PKA0] \cdot \left(\frac{[cAMP]}{K_{cAMP}^{PKA} + [cAMP]} \right)^4 = 2 \cdot [PKA0] \cdot \left(\frac{camp(ca)}{\mu_{cAMP}^{PKA} + camp(ca)} \right)^4, \quad (4.1)$$

$$pka(ca) = 2 \cdot \left(\frac{camp(ca)}{\mu_{cAMP}^{PKA} + camp(ca)} \right)^4, \quad (4.2)$$

где $\mu_{cAMP}^{PKA} = \frac{K_{cAMP}^{PKA}}{K_{ATP}^{AC}}$, $pka = \frac{PKA(ca)}{[PKA0]}$.

Зависимость активности сGMP зависимой протеинкиназы от концентрации сGMP будет:

$$PKG(ca) = [PKG0] \cdot \left(\frac{[cGMP]}{K_{cGMP}^{PKG} + [cGMP]} \right) = [PKG0] \cdot \left(\frac{cgmp(ca)}{\mu_{cGMP}^{PKG} + cgmp(ca)} \right), \quad (4.3)$$

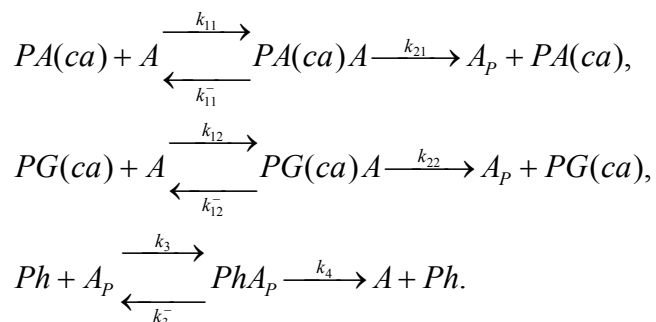
$$pkg(ca) = \left(\frac{cgmp(ca)}{\mu_{cGMP}^{PKG} + cgmp(ca)} \right), \quad (4.4)$$

где $pkg(ca) = \frac{[PKG(ca)]}{[PKG0]}$, $\mu_{cAMP}^{PKA} = \frac{K_{cAMP}^{PKA}}{K_{GTP}^{GC}}$, $ca = \frac{[Ca^{2+}]}{h}$, $[PKG0]$ - общая концентрация PKG .

Обе протеинкиназы сAMP зависимая и сGMP зависимая фосфорилируют, а фосфопроteinфосфатаза PP2A дефосфорилирует белки EF1, EF2, EF3, которые определяет уровень агрегативности, деформабильности и проницаемость мембраны эритроцитов для газов. Рассмотрим зависимость уровня фосфорилирования этих белков от активности протеинкиназ PKA, PKG и фосфопroteinфосфатазы Ph .

Фосфорилирование - это добавление фосфатной группировки (PO_4^{3-}) к белку или другой органической молекуле.

Введем следующие обозначения $A0, Ph$ - общие концентрации белка, который фосфорилируется и фосфопroteinфосфатазы, которая дефосфорилирует, $PA0(ca), PG0(ca)$, общие концентрации протеинкиназ в активной форме. $PA(ca), PG(ca)$ - концентрации свободных протеинкиназ. $[PA(ca)A], [PG(ca)A], [PhA_p]$ - концентрации фермент субстратных комплексов.



Для такой молекулярной системы, можно записать:

$$\begin{aligned}
\frac{d[PA(ca)A]}{dt} &= k_{11} \cdot PA(ca) \cdot A - (k_{21} + k_{11}^-) \cdot [PA(ca)A], \\
\frac{d[PG(ca)A]}{dt} &= k_{12} \cdot PG(ca) \cdot A - (k_{22} + k_{12}^-) \cdot [PG(ca)A], \\
\frac{d[PhA_p]}{dt} &= k_3 \cdot Ph \cdot A_p - (k_4 + k_3^-) \cdot [PhA_p], \\
\frac{dA_p}{dt} &= k_{21} \cdot [PA(ca)A] + k_{22} \cdot [PG(ca)A] - k_3 \cdot Ph \cdot A_p + k_3^- \cdot [PhA_p], \\
\frac{dA}{dt} &= k_4 \cdot [PhA_p] - k_{11} \cdot [PA(ca)] \cdot A + k_{11}^- \cdot [PA(ca)A] - k_{12} \cdot [PG(ca)] \cdot A + k_{12}^- \cdot [PG(ca)A] + k_{11}^- \cdot [PA(ca)A] + k_{12}^- \cdot [PG(ca)A], \\
A + A_p + [PA(ca)A] + [PG(ca)A] + [PhA_p] &= A0, \\
[PA(ca)] + [PA(ca)A] &= PA0(ca), \\
[PG(ca)] + [PG(ca)A] &= PG0(ca), \\
Ph + [PhA_p] &= Ph0.
\end{aligned} \tag{4.5}$$

В квазистационарном приближении, когда $d[PA(ca)A] / dt = 0$, $d[PG(ca)A] / dt = 0$, $d[PhA_p] = 0$ найдем решения для концентрации фермент субстратных комплексов:

$$\begin{aligned}
[PA(ca)A] &= \frac{PA0(ca) \cdot A}{K_{1P} + A}, \\
[PG(ca)A] &= \frac{PG0(ca) \cdot A}{K_{2P} + A}, \\
[PhA_p] &= \frac{Ph0 \cdot A_p}{K_F + A_p},
\end{aligned} \tag{4.6}$$

В этом случае для скорости фосфорилирования белка можно записать:

$$\frac{dA_p}{dt} = k_{12} \cdot [PA(ca)A] + k_{22} \cdot [PG(ca)A] - k_4 \cdot [PhA_p]. \tag{4.7}$$

Из уравнения сохранения (4.5), получим $A = A0 - A_p + [PA(ca)A] + [PG(ca)A] + [PhA_p]$.

Тогда:

$$\begin{aligned}
\frac{dA_p}{dt} &= k_{12} \cdot \frac{PA0(ca) \cdot (A0 - A_p - [PA(ca)A] - [PG(ca)A] - [PhA_p])}{K_{1P} + A0 - A_p - [PA(ca)A] - [PG(ca)A] - [PhA_p]} + \\
&+ k_{22} \cdot \frac{PG0(ca) \cdot (A0 - A_p - [PA(ca)A] - [PG(ca)A] - [PhA_p])}{K_{2P} + A0 - A_p - [PA(ca)A] - [PG(ca)A] - [PhA_p]} - k_4 \cdot \frac{Ph0 \cdot A_p}{K_F + A_p},
\end{aligned} \tag{4.8}$$

где $K_{1P} = \frac{k_{12} + k_{11}^-}{k_{11}}$, $K_{2P} = \frac{k_{22} + k_{21}^-}{k_{21}}$, $K_F = \frac{k_4 + k_3^-}{k_3}$.

В безразмерной форме это уравнение можно записать в следующем виде:

$$\frac{da_p}{d\tau} = h_2 \cdot \left(h_{10} \cdot \frac{pka(ca) \cdot (1 - a_p - p1a - p2a - phap)}{\lambda_{11} + 1 - a_p - p1a - p2a - phap} + h_{20} \cdot \frac{pkg(ca) \cdot (1 - a_p - p1a - p2a - phap)}{\lambda_{21} + 1 - a_p - p1a - p2a - phap} - \frac{a_p}{\lambda_2 + a_p} \right), \quad (4.9)$$

где $a = \frac{A}{A0}, a_p = \frac{A_p}{A0}, p1a = \frac{[PA(ca)A]}{A0}, p2a = \frac{[PG(ca)A]}{A0}, phap = \frac{[PhA_p]}{A0}, h_{10} = \frac{k_{12} \cdot [PKA0]}{k_4 \cdot Ph0},$

$$h_{20} = \frac{k_{22} \cdot [PKG0]}{k_4 \cdot Ph0}, h_2 = \frac{Ph0}{A0}, \lambda_{11} = \frac{K_{1P}}{A0}, \lambda_{21} = \frac{K_{2P}}{A0}, \lambda_2 = \frac{K_F}{A0}, \tau = t \cdot k_4.$$

В работе [30, 31] было найдено стационарное решение уравнения фосфорилирования некоторого белка одной протеинкиназой и дефосфорилирования фосфопротеинфосфатазой в предположении, что концентрациями комплексов можно пренебречь. У нас две протеинкиназы фосфорилируют одни и те же белки. Следуя за [29, 31] предположим, что концентрациями всех комплексов можно пренебречь $[PA(ca)A] \approx 0, [PG(ca)A] \approx 0, [PhA_p] \approx 0$, то получим:

$$\frac{da_p}{d\tau} = h_2 \cdot \left(h_{10} \cdot \frac{pka(ca) \cdot (1 - a_p)}{\lambda_{11} + 1 - a_p} + h_{20} \cdot \frac{pkg(ca) \cdot (1 - a_p)}{\lambda_{21} + 1 - a_p} - \frac{a_p}{\lambda_2 + a_p} \right), \quad (4.10)$$

Найдем стационарное решение этого уравнения при $\frac{da_p}{d\tau} = 0$.

Обозначим:

$$f(a_p) = h_{10} \cdot \frac{h_{11}(ca) \cdot (1 - a_p)}{\lambda_{11} + 1 - a_p} + h_{20} \cdot \frac{h_{21}(ca) \cdot (1 - a_p)}{\lambda_{21} + 1 - a_p} - \frac{a_p}{\lambda_2 + a_p} \quad (4.11)$$

Можно показать, что на отрезке $0 \leq a_p \leq 1$ при положительных значениях параметров, $f(a_p)$ имеет один действительный и два комплексно сопряженных корня, поскольку $f(a_p)$ монотонно спадающая функция ($f'_{ca}(a_p) < 0$) и $f(0) > 0$, $f(1) < 0$.

Найдем стационарное решение уравнения (26), когда $f(a_p) = 0$. В этом случае можно записать:

$$a_p^3 + a(ca) \cdot a_p^2 + b(ca) \cdot a_p + c(ca) = 0, \quad (4.12)$$

где

$$a(ca) = - \frac{\lambda_{11} + \lambda_{21} + 2 - h_{10} \cdot pka(ca) \cdot (\lambda_{21} - \lambda_2 + 2) - h_{20} \cdot pkg(ca) \cdot (\lambda_{11} - \lambda_2 + 2)}{h_{10} \cdot pka(ca) + h_{20} \cdot pkg(ca) - 1},$$

$$b(ca) = -\frac{h_{10} \cdot pka(ca) \cdot (\lambda_2 + (\lambda_2 - 1) \cdot (\lambda_{21} + 1)) + h_{20} \cdot pkg(ca) \cdot (\lambda_2 + (\lambda_2 - 1) \cdot (\lambda_{11} + 1)) + (\lambda_{11} + 1) \cdot (\lambda_{21} + 1)}{h_{10} \cdot pka(ca) + h_{20} \cdot pkg(ca) - 1},$$

$$c(ca) = -\frac{\lambda_2 \cdot h_{10} \cdot pka(ca) \cdot (\lambda_{21} + 1) + \lambda_2 \cdot h_{20} \cdot pkg(ca) \cdot (\lambda_{11} + 1)}{h_{10} \cdot pka(ca) + h_{20} \cdot pkg(ca) - 1}.$$

На основании того, что наше уравнение имеет один действительный корень x_1 и два комплексно сопряженных корня $(r - i \cdot p, r + i \cdot p)$, можно записать:

$$a_p^3 + a(ca) \cdot a_p^2 + b(ca) \cdot a_p + c(ca) = (a_p - x_1) \cdot (a_p - (r - i \cdot p)) \cdot (a_p - (r + i \cdot p)). \quad (4.13)$$

Для нахождения x_1, r, p получим систему уравнений:

$$\begin{aligned} -x_1 - 2 \cdot r &= a(ca), \\ 2 \cdot x_1 \cdot r + r^2 + p^2 &= b(ca), \\ -x_1 \cdot (r^2 + p^2) &= c(ca). \end{aligned} \quad (4.14)$$

Решая эту систему уравнений, получим:

$$D(ca) = [3 \cdot [(4 \cdot b(ca) - a(ca)^2) \cdot b(ca)^2 - c(ca) \cdot (18 \cdot b(ca) \cdot a(ca) - 27 \cdot c(ca) - 4 \cdot a(ca)^3)]]^{0.5}, \quad (4.15)$$

$$DD(ca) = [4 \cdot [3 \cdot D(ca) - 27 \cdot c(ca) - a(ca) \cdot (2 \cdot a(ca)^2 - 9 \cdot b(ca))]]^{\frac{1}{3}}, \quad (4.16)$$

$$a_p = 2 \cdot \frac{b(ca) - \frac{1}{3} \cdot a(ca)^2}{DD(ca)} + \frac{1}{3} \cdot \left(a(ca) - \frac{1}{2} \cdot DD(ca) \right). \quad (4.17)$$

Таким образом, уравнения (5.15 – 5.17) описывают зависимость уровня фосфорилирования белков, которые определяют деформабильность, проницаемость мембраны (пропорционально уровню фосфорилирования белков EFх (a_p)) и агрегативность (пропорционально уровню не фосфорилированных белков EFх (a)) от концентрации кальция. На рис. 5.2 представлены зависимости уровня фосфорилирования (А) и нефосфорилированных (В) белков EFх от концентрации кальция в эритроците при следующих значениях параметров:

$$\mu_{cAMP}^{PKA} = 1.8; \mu_{cGMP}^{PKG} = 8; \lambda_{11}=0.02; \lambda_{21}=0.02; h_{10} = 0.6; h_{20} = 0.6; \lambda_2 = 1.8;$$

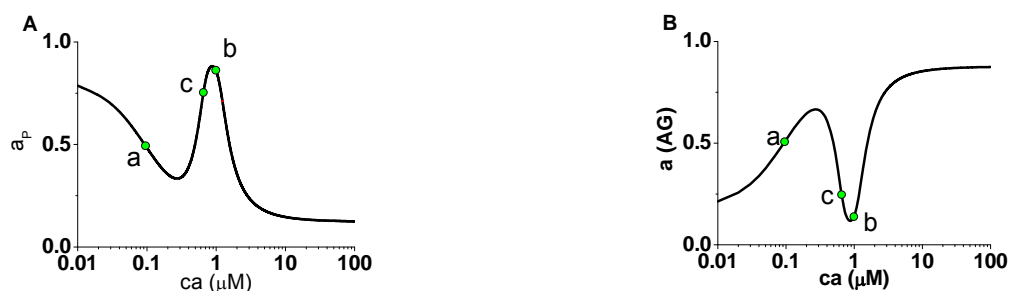


Рис. 4.2. Зависимость уровня фосфорилированных (А) и нефосфорилированных (В) белков EFh от концентрации кальция. (a,b,c) стационарные особые точки

Глава 5. Эритроцит

Эритроциты человека — высокоспециализированные безъядерные клетки, которые участвуют в переносе кислорода из лёгких к тканям тела, а диоксида углерода в обратном направлении.

В эритроците обнаружены механо, потенциал и лиганд зависимые каналы, каналы, проводимость которых модулируется циклическими монофосфатами и т.д. Наличие таких элементов говорит о существовании сложной сигнальной системы (СС), управляющей параметрами эритроцитов. Сейчас известно, что эта СС управляет стационарными значениями агрегативности и пластичности эритроцитов.

Мы предположили, что эта СС также при движении эритроцитов по кровяному руслу обратимо (триггерно) регулирует агрегативность, деформабильность и проницаемость мембраны для газов. При механическом раздражении мембраны эритроцита, когда он входит в предкапиллярные артериолы и испытывает сжатие, срабатывает СС, которая переключает концентрацию кальция в цитоплазме эритроцита с $[Ca^{2+}] \approx 10^{-7} M$ до $[Ca^{2+}] \approx 10^{-6} M$. Это изменение концентрации кальция приводит к тому, что уменьшается агрегативность, возрастает деформабильность и проницаемость мембраны для газов. Пока эритроцит идет по капилляру он остается в этом состоянии. При следующем механическом раздражении мембраны эритроцита, когда он выходит из капилляра в постка-

пиллярные венулы и начинает принимать исходную форму, срабатывает та же СС, которая переключает концентрацию кальция в исходное состояние с $[Ca^{2+}] \approx 10^{-6} M$ до $[Ca^{2+}] \approx 10^{-7} M$ и, как следствие при этом возрастает агрегативность и уменьшается деформабильность и проницаемость мембраны для газов.

Эритроциты - элементы сложной многофункциональной системы, одна из функций которой поддержание в тканях концентрации кислорода и углекислого газа в заданном диапазоне значений в соответствии с запросами метаболизма. В основном это обеспечивается интенсивностью вентиляции легких, регулировкой работы сердца, предкапаллярных сфинктеров и сфинктеров артериовенозных анастомозов. А в случае ауторегуляции мозгового кровотока регулировкой работы церебральных артериол [39] Кроме того, показано, что стационарно могут меняться параметры эритроцитов: их способность формировать монетные столбики - агрегативность (AG), способность менять форму под действием внешних сил – деформобильность (D) и проницаемость мембраны для кислорода и углекислого газа (PM) [14, 15, 19, 24, 40, 45]. И это тоже может влиять на выполнение газотранспортной функции.

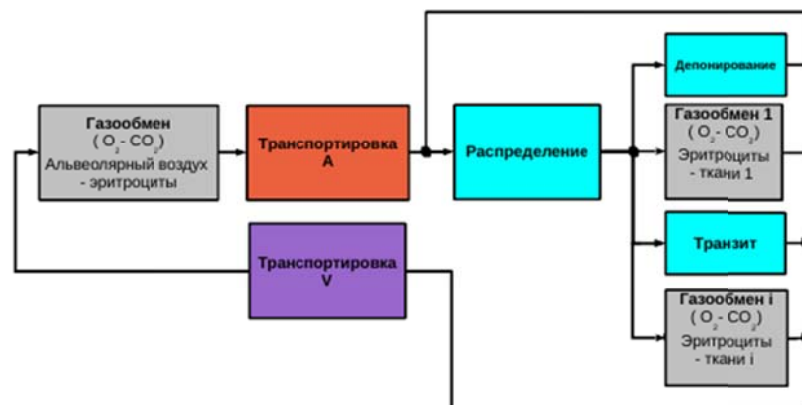


Рис. 5.1. Функциональная схема системы кровотока, обеспечивающей дыхание с участием эритроцитов

Мы предполагаем, что СС эритроцита, кроме того, что она меняет стационарные значения AG, PL, PM, она триггерно переключает параметры эритроцита

с одного стационарного уровня на другой: в обменных капиллярах - высокая PL и PM при низкой AG, в остальных отделах кровеносной системы: низкая PL и PM при высокой AG. За счет этого появляются дополнительные возможности оптимизации работы дыхательной системы (рис. 5.1), которые позволяют минимизировать затраты на продвижение крови по капиллярам, минимизировать газообмен со стенками сосудов и в тоже время позволяют обеспечить необходимую скорость газообмена в капиллярах.

Процесс объединения эритроцитов в агрегаты (AG) является сложным, многофакторным и оказывает существенное влияние на выполнение кровью ее основной кислородтранспортной функции [43]. Агрегация способствует аксиальному дрейфу эритроцитов и образованию краевого плазменного слоя [20]. Повышенное аксиальное скопление эритроцитов способствует снижению локальной вязкости в пристеночной зоне сосуда [8, 60] тем самым модулируя активность сосудистых регуляторных механизмов [10] и снижении отдачи кислорода стенкам сосудов [61, 62].

А на уровне обменных капилляров эффективность кровотока зависит от PL, PM и AG [14, 15, 45] и она будет резко возрастать, если увеличивается PM, PL и уменьшается AG.

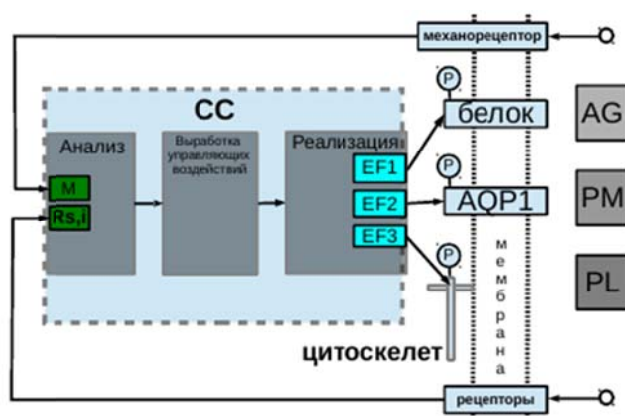


Рис. 5.2. Функциональная схема СС эритроцита. М– механорецептор, R_{s,i} – рецепторы лигандов, управляющих параметрами эритроцитов, СС – сигнальная система, EF1, EF2, EF3 – белки, фосфорилирование которых приводит к изменению AG, PL, PM

На рис. 5.2 представлена функциональная схема системы, управляющей AG, PL, PM эритроцитов. На этой схеме показано, что сигналы с рецепторов поступают на СС, затем анализируются, в результате вырабатываются управляющие воздействия, которые за счет фосфорилирования двух мембранных белков и белка цитоскелета, изменяют AG, PL, PM. Причем под действием сигналов могут происходить как стационарные изменения AG, PL, PM, так и их триггерные переключения.

5.1 Сигнальная система эритроцитов

На рис. 5.3 представлена схема физико-химических процессов, происходящих в СС эритроцитов, управляющей фосфорилированием белков EF1, EF2, EF3, которые в итоге определяют степень AG, PL и PM. Как мы уже говорили показано, что чем выше стационарный уровень фосфорилирования этих белков, тем ниже стационарные значения AG и выше PL и проницаемость мембраны для воды, [55, 56, 66] и как мы предполагаем выше PM. Может ли эта СС триггерно переключать эти параметры, пока не известно. Элементами СС являются физико-химические процессы, обусловленные работой определенных белков. Рассмотрим их по отдельности.

Показано, что у эритроцитов есть мембранные белки AQP1 - аквапорины тип 1 – высокоселективные водные каналы [54]. Через эти каналы может проходить вода, кислород и углекислый газ [22, 27, 34, 57] и они не проницаемы для заряженных молекул. При образовании комплекса AQP1 с циклическими монофосфатами, прежде всего с cGMP, AQP1 становятся проницаемыми для катионов. Их проницаемость слабо зависит от трансмембранной разности потенциалов [9]. В работе [66] показано, что фосфорилирование AQP1 протеинкиназами PKA и PKC приводит к увеличению проницаемости этого канала для воды. Мы предполагаем, что фосфорилирование AQP1 может осуществляться и протеинкиназой PKG и что при этом увеличивается проницаемость не только для

воды, но и для кислорода и углекислого газа. Может ли фосфорилированный водный канал AQP1 образовывать комплекс с циклическим монофосфатами, и становится проницаемыми для катионов, пока не известно.

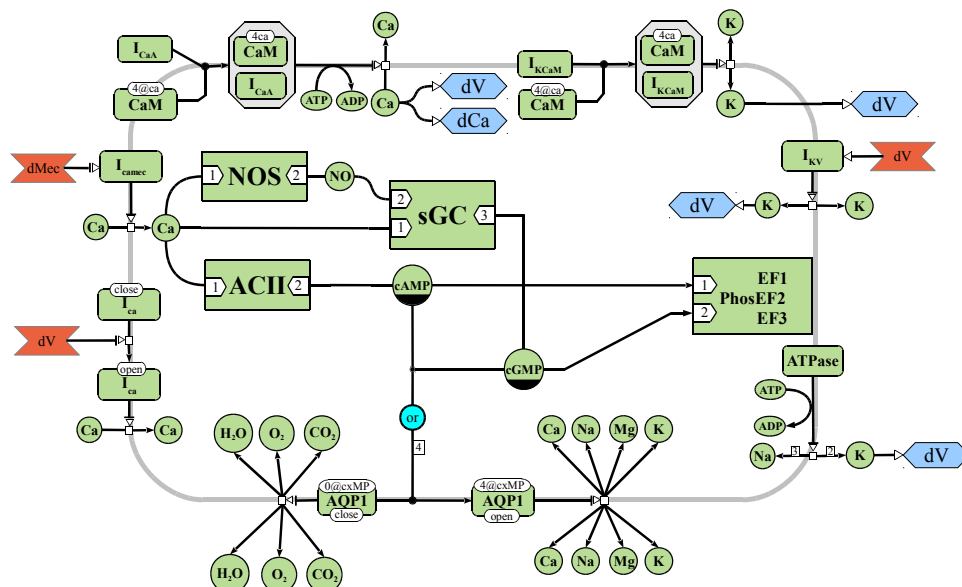


Рис. 5.3. - Схема сигнальной системы, определяющей уровень фосфорилирования определенных мембранных белков EF1, EF3 и белков цитоскелета EF2, которые определяют AG, PM и PL. Ca, Na, Mg, K - ионы кальция, натрия, магния, калия, CaM – кальмодулин, cAMP – циклический аденозинмонофосфат, cGMP – циклический гуанидинмонофосфат, NOS – молекулярный модуль, формирующий концентрацию NO, ACP- молекулярный модуль, формирующий концентрацию cAMP, sGC – молекулярный модуль, формирующий концентрацию cGMP, Phos(EF1, EF2, EF3) – молекулярный модуль, фосфорилирующий белки, EF1, EF2, EF3, уровень фосфорилирования которых определяет AG, PL и PM, I_{CaA} - каналы активного транспорта кальция, I_{Camec} – механоактивируемые кальциевые каналы, I_{Ca} - потенциал активируемые кальциевые каналы, I_{KCaM} – кальций кальмодулин зависимые калиевые каналы, I_{KV} - потенциал зависимые калиевые каналы. AQP1 – аквапорины

В мембране эритроцитов есть несколько типов кальциевых каналов: механически активируемые I_{CaT} [18, 35, 42], потенциалозависимые I_{Ca} [13, 23, 25, 26, 38, 58] и кальций кальмодулин зависимый каналы активного транспорта кальция I_{CaA} [3, 28].

В мембране эритроцитов есть кальций зависимые калиевые каналы I_{KCaM} [13, 25, 36] потенциал зависимые калиевые каналы I_{KV} [3, 23, 38, 59].

В эритроцитах есть белок кальмодулин CaM [48] и есть процессы, обеспечивающие изменения концентрации циклических монофосфатов (сAMP, сGMP). Естественно есть и ферменты их метаболизма [5, 33, 46, 47, 52, 53].

Изменения концентрации циклических монофосфатов модулируют активность протеинкиназ: сAMP – зависимой протеин киназы (РКА) и сGMP зависимой протеинкиназы (РКГ). Эти протеинкиназы и фосфопроteinфосфатаза PP2A определяют уровень фосфорилирования белков мембраны EF1, EF2 и цитоскелета EF3. Фосфорилирование определенных белков оказывает влияние на реологические свойства крови за счет изменения AG и PL [16, 50, 51, 55]. В работе [1, 2] показано, что фосфорилирование AQP1 протеинкиназами РКА и РКС приводит к увеличению проницаемости этого канала для воды. Мы предполагаем, что фосфорилирование AQP1 может влиять на проницаемость мембраны эритроцитов для газов.

На рис. 5.3 представлена схема сигнальной системы, управляющей фосфорилированием белков мембраны и цитоскелета эритроцита, которые в свою очередь определяют AG, PM и PL. Эта схема нарисована на языке SBGN [49] с условностями, которые там приняты. Проанализируем работу этой сигнальной системы.

5.2 Моделирование

На основе схемы, представленной На рис. 5.3, нами была построена математическая модель, состоящая из двух обыкновенных дифференциальных уравнений:

для $dca/d\tau$ - скорости изменения концентрации кальция в цитоплазме эритроцита, и для $dv/d\tau$ - скорости изменения трансмембранной разности потенциалов.

Для остальных переменных (всех реакций комплексообразования, изменения концентрации NO, cAMP, cGMP), входящих в нашу модель, мы использовали стационарные решения, полагая, что их скорости выхода на стационар превышают скорости выхода на стационар концентрации ca и трансмембранной разности потенциалов v . В качестве начальных значений мы брали в одном случае значения переменных в особых точках, в другом значения, расположенные на ребрах квадранта правой полуплоскости $0.01 < ca < 1.2, -9 < v < 3$.

На основе схемы, представленной на рис. 5.3, для скоростей изменения концентрации кальция и трансмембранной разности потенциалов эритроцита в безразмерной форме можно записать:

$$\begin{cases} \frac{dca}{d\tau} = w_0 \cdot (i_{Ca}^{mec} + i_{Ca}^L + i_{Ca}^{AQPI} + i_{Ca}^A), \\ \frac{dv}{d\tau} = w_1 \cdot (i_{Ca}^{mec} + i_{Ca}^L + i^{AQPI} + i_K^{CaM} + i_K^V + i_{Ca}^A + i^{ATPase}) \end{cases} \quad (5.1)$$

$$i_{Ca}^{mec} + i_{Ca}^L = if(t > t_o \vee t < t_c, A \cdot m(ca), 0) + A_{con} \cdot m(ca), \quad (5.2)$$

$$i_{Ca}^A = -h_{Ca}^A \cdot \left(\frac{cm_4^A \cdot (1 - stA)}{k_{CaM}^A + cm_4^A} + stA \right) \cdot \frac{ca}{(\lambda_{ca}^{on} + ca)} \cdot \frac{\lambda_{out}}{(\lambda_{ca}^{out} + ca_{out})}, \quad (5.3)$$

$$i_{Ca}^{AQPI} = -(\eta_{AQPI}(v) \cdot \eta_{AQPI}(ca) + \eta_{AQPI}^0) \cdot m(ca), \quad (5.4)$$

$$i^{AQPI} = -(\eta_{AQPI}(v) \cdot \eta_{AQPI}(ca) + \eta_{AQPI}^0) \cdot (m(ca) + v_{AQPI}^{Na} \cdot m(Na) + v_{AQPI}^{Mg} \cdot m(Mg) + v_{AQPI}^K \cdot m(K)), \quad (5.5)$$

$$i_K^{CaM} = -h_K^{CaM} \cdot \left(\frac{cm_4^{CaMK} \cdot (1 - f_{st}^K)}{k_{KCaM} + cm_4^{CaMK}} + f_{st}^K \right) \cdot m(K), \quad (5.6)$$

$$i_K^V = -h_K^V \cdot \eta_K(v) \cdot m(K), \quad (5.7)$$

$$i^{ATPase} = h^{ATPase}, \quad (5.8)$$

$$\eta_{AQP1}(ca) = \left(\frac{\frac{camp(ca)}{k_{cAMP}^{AQP1}} + \frac{cgmp(ca)}{k_{cGMP}^{AQP1}}}{1 + \frac{camp(ca)}{k_{cAMP}^{AQP1}} + \frac{cgmp(ca)}{k_{cGMP}^{AQP1}}} \right)^4, \quad (5.9)$$

$$\eta_K(v) = \frac{(1-stK) \cdot \exp(\alpha_K \cdot (v + d_K))}{\lambda_K + \exp(\alpha_K \cdot (v + d_K))} + stK, \quad (5.10)$$

$$\eta_{AQP1}(v) = \frac{(1-stAQP1) \cdot \exp(\alpha_{AQP1} \cdot (v + d_{AQP1}))}{\lambda_{AQP1} + \exp(\alpha_{AQP1} \cdot (v + d_{AQP1}))} + stAQP1, \quad (5.11)$$

$$camp(ca) = \frac{ac(ca)}{\mu_{cAMP} - ac(ca)}, \quad (5.12)$$

$$cgmp(ca) = \frac{sgc(ca)}{\mu_{cGMP} \cdot (pde_5(ca) + pde_2) - sgc(ca)}, \quad (5.13)$$

$$ac(ca) = \frac{cm_0^{AC} \cdot (1 - f_{st}^{AC})}{k_{CaM}^{AC} + cm_0^{AC}} + f_{st}^{AC}, \quad (5.14)$$

$$nos(ca) = \frac{cm_4^{NOS} \cdot (1 - f_{st}^{NOS})}{k_{CaM}^{NOS} + cm_4^{NOS}} + f_{st}^{NOS}, \quad (5.15)$$

$$\begin{aligned} d_1(ca) &= g_1 \cdot a \cdot nos(ca) - g_2 \cdot in + g_3 \cdot (nost - 1), \\ d_2(ca) &= g_1 \cdot a \cdot nos(ca) + nost, \end{aligned} \quad (5.16)$$

$$no(ca) = 0.5 \cdot \left(d_1(ca) + (d_1(ca)^2 + 4 \cdot d_2(ca))^{0.5} \right), \quad (5.16A)$$

$$sgc(ca) = \frac{no(ca) \cdot (1 - f_{st}^{GC})}{k_{NO}^{GC} + no(ca)} + f_{st}^{GC}, \quad (5.17)$$

$$pde_5(ca) = \frac{cm_4^{PDE_5} \cdot (1 - f_{st}^{PDE_5})}{k_{CaM}^{PDE_5} + cm_4^{PDE_5}} + f_{st}^{PDE_5}, \quad (5.18)$$

$$pka(ca) = 2 \cdot \left(\frac{camp(ca)}{\mu_{cAMP}^{PKA} + camp(ca)} \right)^4, \quad (5.19)$$

$$pkg(ca) = \left(\frac{cgmp(ca)}{\mu_{cGMP}^{PKG} + cgmp(ca)} \right), \quad (5.20)$$

$$\frac{da_p}{d\tau} = h_2 \cdot \left(h_{10} \cdot \frac{pka(ca) \cdot (1-a_p)}{\lambda_{11} + 1 - a_p} + h_{20} \cdot \frac{pkg(ca) \cdot (1-a_p)}{\lambda_{21} + 1 - a_p} - \frac{a_p}{\lambda_2 + a_p} \right), \quad (5.21)$$

$$a(ca) = - \frac{\lambda_{11} + \lambda_{21} + 2 - h_{10} \cdot pka(ca) \cdot (\lambda_{21} - \lambda_2 + 2) - h_{20} \cdot pkg(ca) \cdot (\lambda_{11} - \lambda_2 + 2)}{h_{10} \cdot pka(ca) + h_{20} \cdot pkg(ca) - 1}, \quad (5.22)$$

$$b(ca) = - \frac{h_{10} \cdot pka(ca) \cdot (\lambda_2 + (\lambda_2 - 1) \cdot (\lambda_{21} + 1)) + h_{20} \cdot pkg(ca) \cdot (\lambda_2 + (\lambda_2 - 1) \cdot (\lambda_{11} + 1)) + (\lambda_{11} + 1) \cdot (\lambda_{21} + 1)}{h_{10} \cdot pka(ca) + h_{20} \cdot pkg(ca) - 1}, \quad (5.23)$$

$$c(ca) = - \frac{\lambda_2 \cdot h_{10} \cdot pka(ca) \cdot (\lambda_{21} + 1) + \lambda_2 \cdot h_{20} \cdot pkg(ca) \cdot (\lambda_{11} + 1)}{h_{10} \cdot pka(ca) + h_{20} \cdot pkg(ca) - 1}. \quad (5.24)$$

$$D(ca) = \left[3 \cdot \left[(4 \cdot b(ca) - a(ca)^2) \cdot b(ca)^2 - c(ca) \cdot (18 \cdot b(ca) \cdot a(ca) - 27 \cdot c(ca) - 4 \cdot a(ca)^3) \right] \right]^{0.5}, \quad (5.25)$$

$$DD(ca) = \left[4 \cdot \left[3 \cdot D(ca) - 27 \cdot c(ca) - a(ca) \cdot (2 \cdot a(ca)^2 - 9 \cdot b(ca)) \right] \right]^{\frac{1}{3}}, \quad (5.26)$$

$$a_p = 2 \cdot \frac{b(ca) - \frac{1}{3} \cdot a(ca)^2}{DD(ca)} + \frac{1}{3} \cdot \left(a(ca) - \frac{1}{2} \cdot DD(ca) \right), \quad (5.27)$$

$$\text{где } a = \frac{A}{A_0}, \quad a_p = \frac{A_p}{A_0}, \quad pa = \frac{[PA]}{A_0}, \quad na_p = \frac{[NA_p]}{A_0}, \quad h_1 = \frac{K_P}{A_0}, \quad h_2 = \frac{K_F}{A_0}, \quad h_4 = k_2 / k_4, \quad h_5 = \frac{N_0 \cdot k_4}{A_0 \cdot r_3}$$

$$, \quad ca = \frac{[Ca_{in}^{2+}]}{h}, \quad v = \frac{V \cdot F}{RT}, \quad \tau = t \cdot r, \quad camp = [cAMP] / K_{cAMP}^{AC}, \quad cgmp = [cGMP] / K_{cGMP}^{GC},$$

$$\mu_{cAMP} = \frac{k_2 \cdot [PDE_{2,3}0] \cdot (K_{ATP}^{AC} + [ATP])}{k_1 \cdot [ACH0] \cdot [ATP]}, \quad \mu_{cGMP} = \frac{k_4 \cdot [PDE_50] \cdot (K_{GTP}^{GC} + [GTP])}{k_3 \cdot [GC0] \cdot [GTP]}, \quad pde_2 = \frac{[PDE_20]}{[PDE_50]},$$

$$k_{CaM}^{AC} = \frac{K_{CaM}^{AC}}{[CM0]}, \quad cm_0^{AC} = \frac{k_{Ca}^{AC}}{(k_{Ca}^{AC} + ca)^4}, \quad cm_4^{NOS} = \frac{ca^4}{(k_{Ca}^{NOS} + ca)^4}, \quad cm_4^A = \frac{ca^4}{(k_{Ca}^A + ca)^4},$$

$$cm_4^{CaMK} = \frac{ca^4}{(k_{Ca}^{CaMK} + ca)^4}, \quad h_K^{CaM} = \frac{N_K^{CaM} \cdot g_{Kmax}^{CaM}}{N_{AQPI}^{Ca} \cdot g_{AQPI}^{Ca}}, \quad h_K^V = \frac{N_K^V \cdot g_K^{Vmax}}{N_{AQPI}^V \cdot g_{AQPI}^V}, \quad h_{Ca}^A = \frac{N_A \cdot i_A^{max} \cdot F}{N_{AQPI}^A \cdot g_{AQPI}^A \cdot R \cdot T},$$

$$h^{ATPase} = \frac{(N_{Na-K}^{ATPase} \cdot i_{Na-K}^{max} + N_{Mg}^{ATPase} \cdot i_{Mg}^{max}) \cdot F}{N_{AQPI}^{Ca} \cdot g_{AQPI}^{Ca} \cdot R \cdot T}, \quad A = \frac{N_{mex+L}^{Ca} \cdot (g_{mex}^{Ca} + g_L^{Ca})}{C_{y0} \cdot r}, \quad A_{con} = \frac{N_{con}^{Ca} \cdot g_{con}^{Ca}}{C_{y0} \cdot r}.$$

Для удобства была введена вспомогательная функция $m(q)$ для конкретного иона q , имеющего безразмерный заряд z :

$$m(q) = v - \frac{1}{z} \ln \left(\frac{[q_{out}]}{[q_{in}]} \right), \quad (5.28)$$

где $[q_{out}]$, $[q_{in}]$ - концентрации иона q вне и внутри эритроцита соответственно, $v = \frac{V \cdot F}{RT}$, V – трансмембранная разность потенциалов, F – константа Фарадея, T – температура, R – универсальная газовая постоянная, z – безразмерный заряд иона.

Для простоты нами кальциевые токи, которые при раздражении эритроцита быстро инактивируются, (механо активируемые и потенциал зависимые кальциевые токи $i_{Ca}^{mec} + i_{Ca}^L$) были представлены прямоугольным импульсом длительностью $T = t_c - t_0$ и безразмерной амплитудой A . Кроме того, в эту функцию был добавлен постоянный кальциевый ток A_{con} , который позволяет рассчитать, какими бы были нуль изоклины и фазовые траектории, если бы был такой постоянный ток (в реальности такого тока нет).

В нашу модель входит 31 параметр, значения многих неизвестны. Мы нашли такие значения параметров, при которых наша система работает как триггер, с двумя устойчивыми значениями стационарных концентраций кальция: одна при $\approx 10^{-7}M$, другая при $\approx 10^{-6}M$. При этом трансмембранная разности потенциалов около -50 мВ. Переключения из одного стационарного состояния в другое и обратно происходит примерно одинаковыми кальциевыми импульсами.

5.3 Анализ математической модели

Уравнения (5) при варьировании значений параметров в широком диапазоне значений, дают три принципиально разных типа фазовых портретов:

1) одна особая точка (устойчивый узел) при значении концентрации кальция $\sim 10^{-7}M$ ($ca \approx 0.1$) (рис. 5A);

2) три особых точки (два устойчивых узла). Первая устойчивая особая точка при значении концентрации кальция $\sim 10^{-7}M$ ($ca \approx 0.1$), вторая устойчивая особая точка при $\sim 10^{-6}M$ ($ca \approx 1$) (рис 5B);

3) одна особая точка (устойчивый узел) при значении концентрации кальция $\sim 10^{-6}M$ ($ca \approx 1$) (рис. 5C).

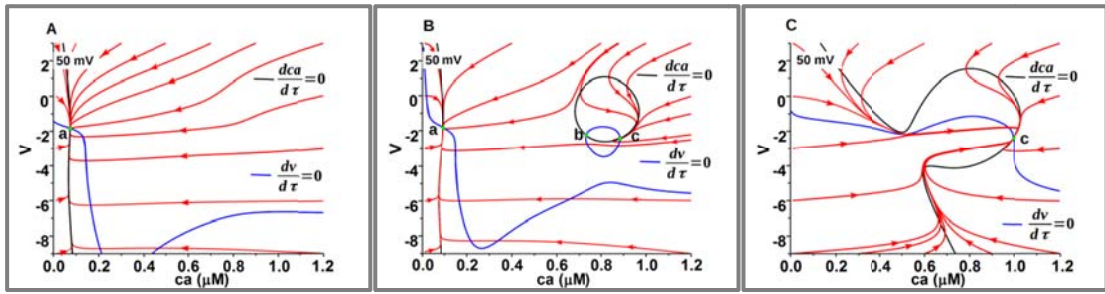


Рис. 5.4 – Фазовые портреты системы (5) при трех разных значениях параметров. А) – одна особая точка **a** – устойчивый узел в области малых значений концентрации кальция. В) - три особые точки **a, b, c**. Особые точки **a, c** – устойчивые узлы. С) – одна особая точка **c** – устойчивый узел в области средних физиологических значений концентрации кальция

Проанализируем работу СС при таких значениях параметров, когда есть три особых точки **a, b, c**. Можно показать, что в этом случае переключение из особой точки **a** в **c** и обратно может происходить прямоугольным импульсом кальциевого тока определенной амплитуды A и длительности T .

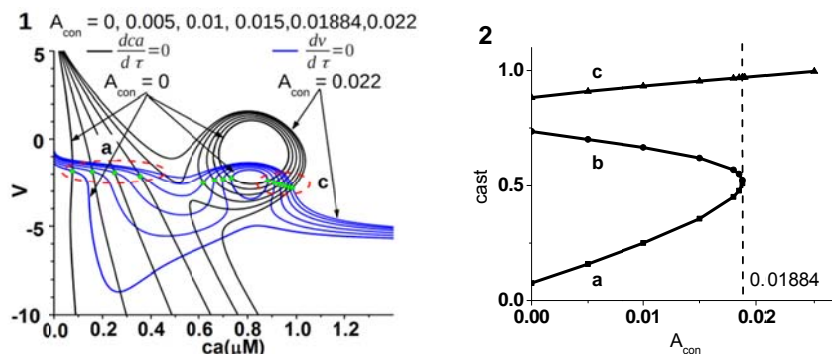


Рис. 5.5 – 1) Семейство нуль изоклин системы (5) при разных значениях параметра A_{con} . 2) Зависимость значений стационарных концентраций (**a, b, c**) от параметра A_{con} . Значения всех остальных параметров модели представлены в таблице 6

На рис. 5.5 представлено семейство фазовых портретов системы (5) при разных значениях параметра A_{con} . Значения остальных параметров представлены в таблицах 4, 5, 6.

Видно, что при некотором критическом значении параметра A_{con} происходит изменение количества особых точек. При $A_{\text{con}} \geq 0.01884$ у системы (5) есть только одна особая точка **с**. При меньших значениях A_{con} три особые точки. Если система, начально находилась в точке **а** (при $A_{\text{con}} = 0$), то при $A_{\text{con}} \geq 0.01884$ изображающая точка будет перемещаться в единственную особую точку **с**. В зависимости от длительности импульса T изображающая точка может вести себя по-разному.

Фазовые траектории модели (5) в ответ на прямоугольные импульсы кальциевого тока амплитудой A и длительностью T представлены на рис. 5.6.

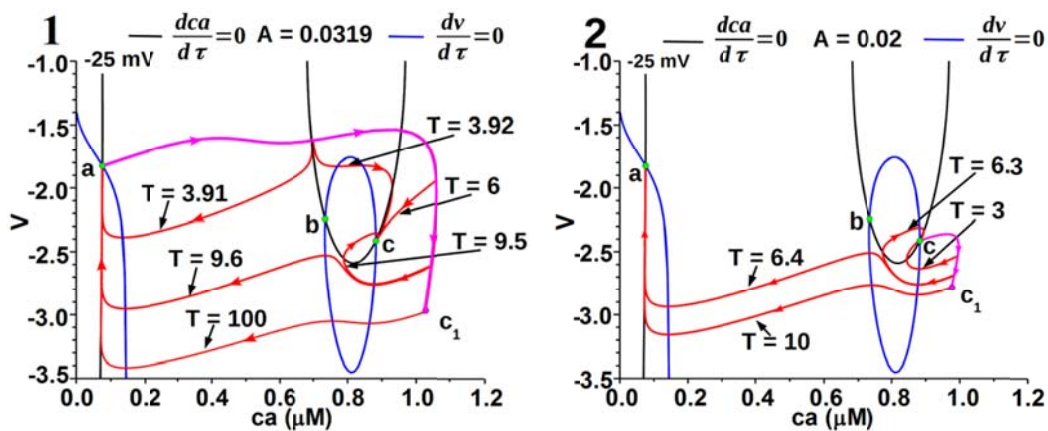


Рис. 5.6. Фазовые траектории системы (5) в ответ на прямоугольный импульс кальциевого тока амплитудой A и длительностью T . 1) Начальные значения в точке **а**. Фазовые траектории в ответ на прямоугольный импульс амплитудой $A = 0.0319$ с разными длительностями $T = 3.91, 3.92, 6, 9.5, 9.6, 100$. Розовой линией обозначена фазовая траектория при $A = 0, A_{\text{con}} = 0.0319$, проходящая через **а** и особую точку **с**₁. 2) Начальные значения в точке **с**. Фазовые траектории в ответ на раздражение прямоугольным импульсом амплитудой $A = 0.02$ с разными длительностями $T = 3, 6.3, 6.4, 10$. Розовой линией обозначена фазовая траектория при $A = 0, A_{\text{con}} = 0.02$, проходящая через **с** и особую точку **с**₁

Переключение из особой точки **а** в точку **с** происходит таким прямоугольным кальциевым импульсом с амплитудой $A = A_{\text{con}}$, при которой система 1 имеет только одну особую точку **с**₁ (рис. 5.4(С)), а длительность импульса

находится в определенном интервале. В этом случае изображающая точка, которая начально находится в **a**, при подаче импульса амплитудой A начинает двигаться в особую точку c_1 (фазовая траектория обозначена розовым цветом). Далее, в зависимости от длительности импульса изображающая точка может вернуться в особую точку **a**, (рис. 5.6(1), $T \leq 3.91$) может переключиться в особую точку **c** (рис. 5.6(1), $T = 3.92 \div 9.5$) или, минуя особую точку **c**, возвратиться в особую точку **a** (рис. 5.6(1), $T \geq 9.6$).

Переключение из особой точки **c** в точку **a** происходит таким прямоугольным кальциевым импульсом амплитудой $A = A_{\text{con}}$, при которой изображающая точка системы 1 к моменту окончания импульса, располагается на фазовой траектории (рис. 5.6(2), $A = 0.02$, $T \geq 6.4$), идущей в особую точку **a**. На рис. 5.7 представлено изменение концентрации кальция (ca) во времени (τ) при раздражении клетки прямоугольным импульсом кальциевого тока амплитудой A и различными длительностями T .

Наша модель в ответ на прямоугольный кальциевый импульс определенной амплитуды A и длительности T переключается из стационарного состояния **a** в стационарное состояние **c** и обратно. На рис. 5.8 представлены пороговые характеристики нашей системы при двух разных значениях параметра p_2 (3.95, 4). Если параметры импульса принадлежат области белого цвета (рис 5.8(1,2)), то эритроцит остается в той особой точке, в которой он был. Если розовой, то эритроцит, находящийся в **a** в ней и останется, а эритроцит, находящийся в **c**, переключится в особую точку **a**. Если параметры импульса принадлежат светло зеленой области, то эритроцит из особой точки **a** будет переключаться в **c**, а из **c** в **a**. Если параметры импульса принадлежат светло красной области, то эритроцит из особой точки **a** будет переключаться в **a**, а из **c** тоже в **a**.

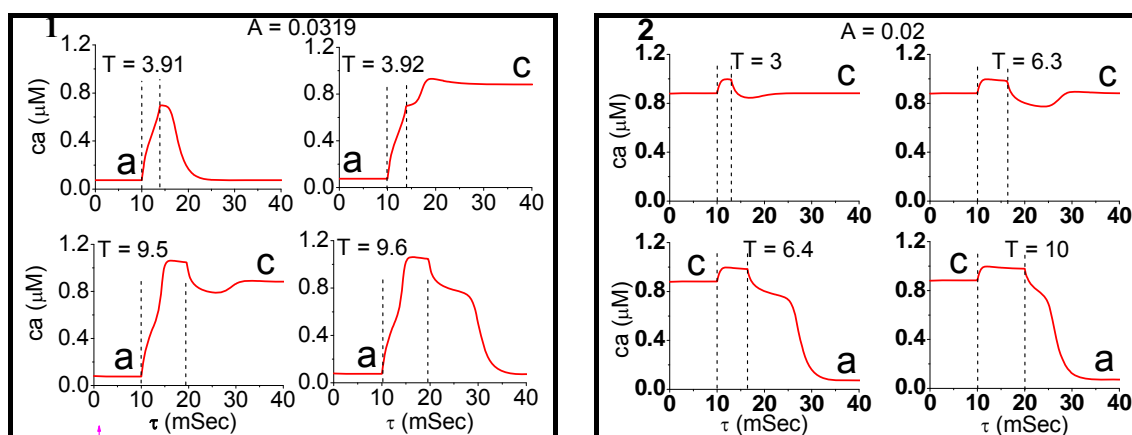


Рис. 5.7. – Изменение концентрации кальция (ca) во времени (τ) при раздражении клетки прямоугольным импульсом кальциевого тока амплитудой A и длительностью T . Импульс включается при $\tau = 10$. Длительность импульса обозначена двумя штрихпунктирными линиями. 1) Начальные значения в особой точке **a**. На клетку действуют импульсы амплитудой $A = 0.0319$ с разными длительностями $T = 3.91, 3.92, 9.5, 9.6$. 2) Начальные значения в особой точке **c**. На клетку действуют импульсы амплитудой $A = 0.02$ с разными длительностями $T = 3, 6.3, 6.4, 10$

На рис. 5.9 представлена зависимость концентрации кальция в эритроците от времени при раздражении клетки кальциевыми импульсами, параметры которых принадлежат различным областям. Выделены три точки 1, 2, 3 (рис. 5.8(1)).

Импульсы, амплитуда и длительность которых принадлежит зеленой области, переключают как из стационарного состояния **a** в стационарное состояние **c**, так и обратно. Импульсы, амплитуда и длительность которых принадлежит розовой и красной областям, переключают из любого начального состояния в **a**. Импульсы, амплитуда и длительность которых принадлежат белой области, не изменяют состояние системы.

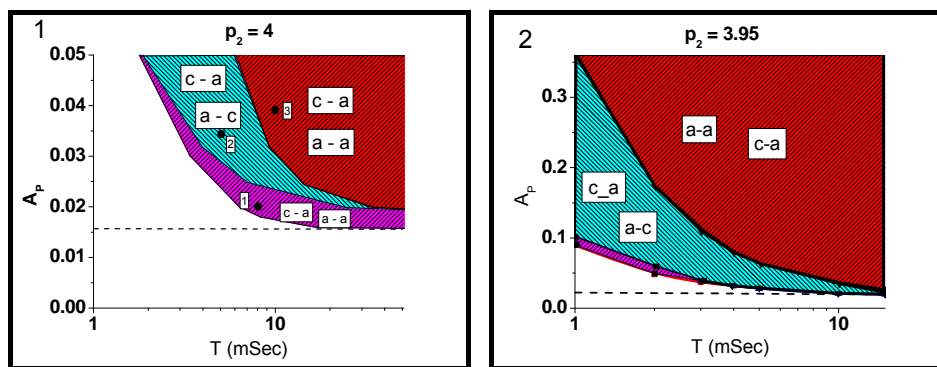


Рис. 5.8. Разбиение плоскости раздражающих импульсов на области с различными реакциями системы 1. Белый цвет - при таком значении параметров импульса система не изменяет своего состояния. Розой цвет – при таком значении параметров импульса система переходит в стационарную точку **a** при любом начальном состоянии. Зеленый цвет - при таком значении параметров импульса система переходит из **a** в **c** из **c** в **a**. Красный цвет - при таком значении параметров импульса система переходит в **a** из любого начального состояния. 1) При $p_2 = 4$. 2) При $p_2 = 3.95$

Переключение системы (5) под действием двух импульсов соответствующих разным областям (точки 1, 2, 3 рис. 5.9) показаны На рис. 5.9.

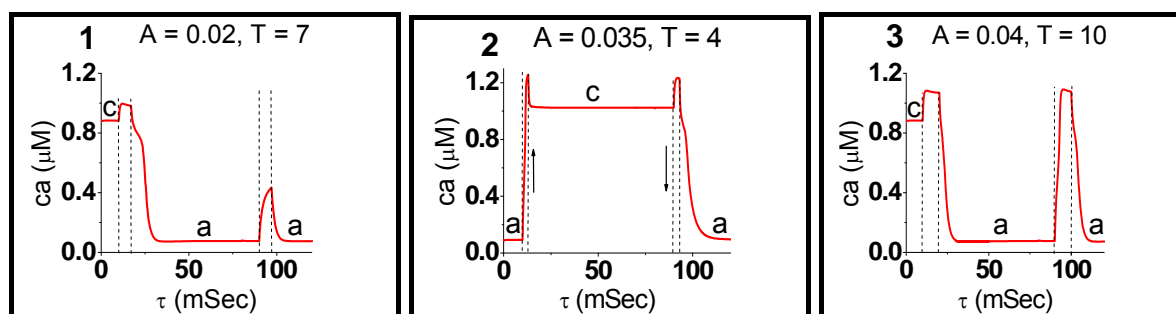


Рис. 5.9. – Поведение системы (5) после действия двух следующих друг за другом одинаковых кальциевых импульсов, параметры которых принадлежат 1) розовой области (рис. 5.8(1) точка 1), 2) светло-зелёной области (рис. 5.8(1) точка 2), 3) красной области (рис. 5.8(1) точка 3). Момент действия импульсов обозначен штрихпунктирными линиями

Чем же определяется амплитуда и длительность кальциевых импульсов, которые запускаются механорецептором. С одной стороны скоростью движения эритроцитов при вхождении в предкапиллярную область, задающей время, в течении которого эритроцит будет деформироваться (длительность импульса), с другой стороны диаметром предкапилляров, определяющим насколько сильно будет деформирован эритроцит (амплитуда импульса). Если учесть, что есть еще потенциал зависимые кальциевые каналы, то зависимость параметров кальциевого импульса также будет определяться характеристиками этих каналов.

Нами были найдены значения параметров (таблица 4, 5), при которых система (5) имеет три особые точки **a**, **b**, **c**, расположенные по оси потенциалов в области -2 (-50 mV), по оси концентраций кальция **a** ($c_a \approx 0.1$), **c** ($c_a \approx 1$). Кроме того, мы нашли такие значения параметров, при которых система триггерно переключается из **a** в **c** и обратно (пороговые характеристики точек **a** и **c** примерно одинаковые (рис.5.8(2))). С нашей точки зрения эти значения параметров СС эритроцита можно отнести к одному из вариантов нормы. В этом случае переключение параметров эритроцитов будет способствовать более оптимальному выполнению газотранспортной функции.

При этом необходимо учитывать, что все параметры реальных эритроцитов (плотность каналов, общие концентрации ферментов и т.д.) непрерывно изменяются. У эритроцита нет ядра, нет эндоплазматического ретикулома и следовательно нет системы регенерации белков. Разные белки имеют разные времена полуинактивации: от нескольких часов до нескольких месяцев. Поэтому, реальные эритроциты будут иметь разброс всех параметров, который приведет к разным значениям стационарных концентраций кальция, к разным значениям порогов. Как это будет влиять на их динамическое поведение, будет зависеть от параметров этого разброса.

При различных патологиях, при старении, и при действии физиологически активных соединений будут происходить изменения в значениях параметров СС. Могут возникать ситуации, когда есть только одна особая точка **a** или **c**. В

этом случае в ответ на раздражение кальциевым импульсом система будет отвечать только импульсным изменением ее характеристик. На рис. 5.10 (1,2) представлены реакции нашей системы, у которой есть только одна особая точка **a**, на импульсы длительностью $T = 10$ и разными амплитудами. На рис. 5.4.11 (1,2) представлены реакции нашей системы, у которой есть только одна особая точка **c**, на импульсы длительностью $T = 10$ и разными амплитудами.

В первом случае эритроциты будут иметь высокое значение AG и низкие PM и PL и как следствие высокую скорость осаждения эритроцитов. Во втором будет высокое значение PM и PL и низкая AG и как следствие низкую скорость осаждения эритроцитов. При действии кальциевых импульсов в первом случае эритроциты на короткий промежуток времени будут уменьшать AG и увеличивать PL, PM. Во втором случае при действии кальциевого импульса будет увеличиваться AG и уменьшаться PL, PM. Это будет сказываться на газотранспортных характеристиках крови.

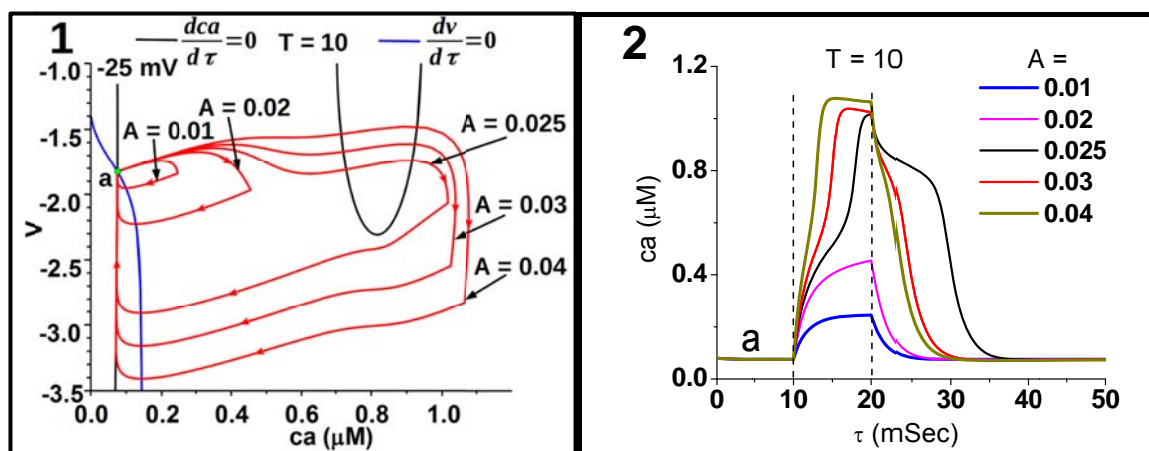


Рис. 5.10. Реакция системы 1, имеющей одну особую точку **a**, на импульсы кальциевого тока. 1) Фазовые траектории системы (5) в ответ на действие кальциевых импульсов длительность $T = 10$ разной амплитуды $A = 0.01, 0.02, 0.025, 0.03, 0.04$. 2) Изменения концентрации кальция во времени (τ) в ответ на действие кальциевых импульсов длительность $T = 10$ разной амплитуды $A = 0.01, 0.02, 0.025, 0.03, 0.04$

Особым случаем патологии будут такие изменения параметров нашей системы, при которых будут три особые точки, но при этом будут большие различия в порогах переключения из **а** в **с** и из **с** в **а**, которые могут приводить к большому разбросу стационарных состояний эритроцитов в различных условиях (при разных скоростях кровотока, при разных диаметрах капилляров).

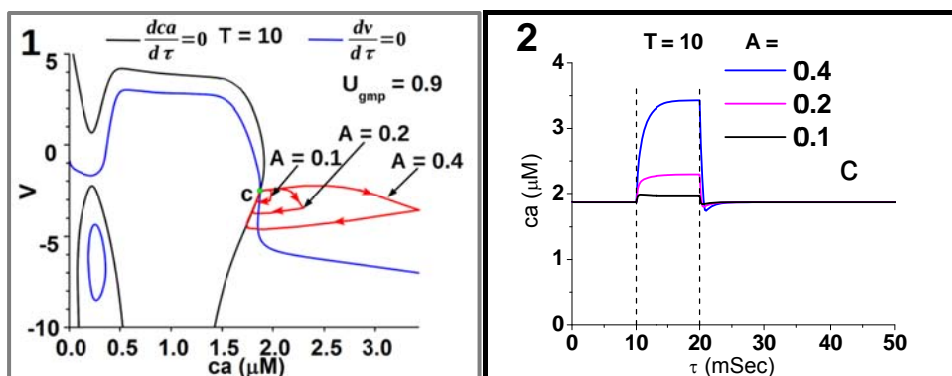


Рис. 5.11. Реакция системы 1, имеющей одну особую точку **с**, на импульсы кальциевого тока. 1) Фазовые траектории системы (5) в ответ на действие кальциевых импульсов длительность $T = 10$ разной амплитуды $A = 0.1, 0.2, 0.4$. 2) Изменения концентрации кальция во времени (τ) в ответ на действие кальциевых импульсов длительность $T = 10$ разной амплитуды $A = 0.1, 0.2, 0.4$

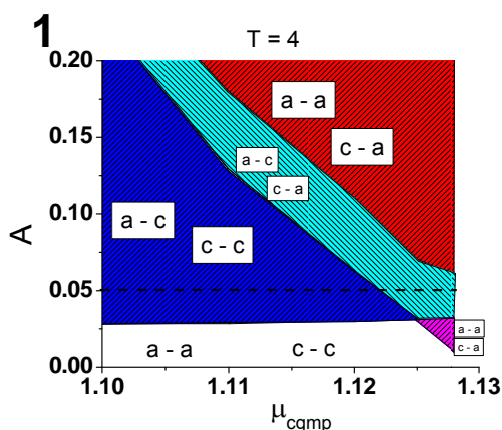


Рис. 5.12. Зависимость пороговых характеристик от параметра

$$\mu_{cgmp} = \frac{k_4 \cdot [PDE_5 0]}{k_3 \cdot [GC 0]}, [GTP] \gg K_{GC} \text{ при фиксированной длительности раздражающего}$$

импульса $T = 4$

В качестве примера На рис. 5.12 мы привели зависимость пороговых характеристик от $\mu_{cGMP} = \frac{k_4 \cdot [PDE_5 0]}{k_3 \cdot [GC 0]} \cdot [GTP] \gg K_{GC}$. Видно, что при изменении значения этого параметра в пределах 3% могут происходить существенные изменения пороговых характеристик. При определенном увеличении активности гуанилатциклазы $\mu_{cGMP} < 1.122$, если амплитуда кальциевых импульсов остается около $A = 0.05$, все клетки могут перейти в особую точку **c** (низкая AG и высокая PL и PM соответственно этому низкая скорость осаждения эритроцитов).

5.4 Фосфорилирование белков эритроцита

Как мы уже говорили, в эритроците есть протеинкиназы и фосфопротеин-фосфатаза, которые отвечают за фосфорилирование белков EF1, EF2, EF3, отвечающих за AG, PL, PM.

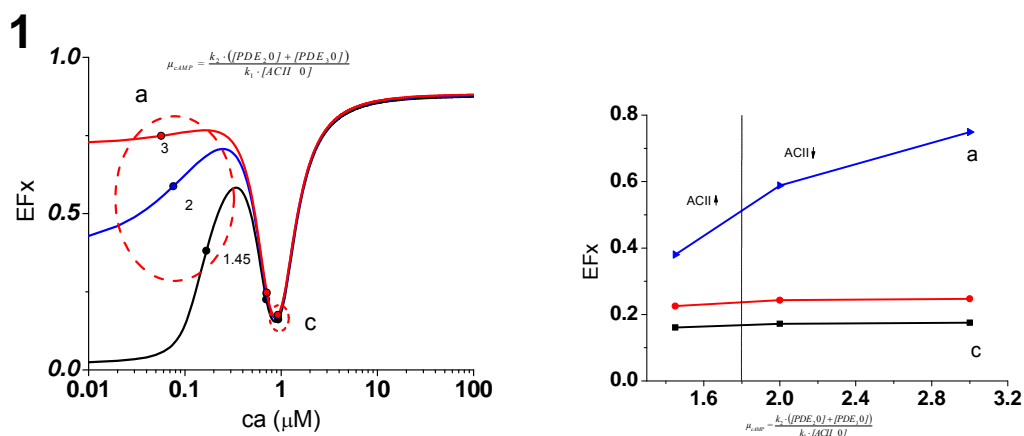


Рис. 5.13. – Зависимость уровня нефосфорилированных белков EFx (EF1, EF2, EF3) от концентрации кальция в эритроците. 1) Уровень нефосфорилированных белков EFx при разных значениях μ_{cAMP} в зависимости от концентрации кальция. 2) Зависимость стационарного уровня нефосфорилированных белков EFx от параметра μ_{cAMP}

Как мы уже говорили наличие молекул (рис. 5.3) и связей между ними, которые включены нами в СС эритроцита, показано экспериментально. Кроме

этих молекул, которые можно было бы отнести к СС, есть еще и другие, которые мы пока не рассматривали. Однако, не все свойства, которые мы приписываем этим молекулам показаны экспериментально. Пока неизвестно, сколько молекул циклических монофосфатов должны образовать комплекс с AQP1, чтобы этот канал стал проницаем для катионов. Также неизвестно, могут ли фосфорилированные молекулы AQP1 каналов образовывать комплекс с циклическими монофосфатами и становиться проницаемыми для катионов. Как мы уже говорили, показано, что белки E1, E2, E3 могут фосфорилироваться РКА и РКС. Мы постулировали, что эти белки фосфорилируются также и РKG.

Общие концентрации белков, удельные плотности каналов и их характеристики, константы скоростей ферментативных реакции, константы Михаэлиса, уровни кальций кальмодулин независимых активностей ферментов и ионных каналов нами были оценены теоретически. Наши теоретические оценки не выходят за рамки физиологических значений. То есть они имеют право на существование. Расчеты показывают, что не только при таких, как у нас, значениях параметров, эритроцит будет переключаться триггерно с примерно одинаковыми порогами. Многие параметры взаимосвязаны, когда изменение одного может быть компенсировано изменением другого. Определение границ изменения параметров с учетом их взаимного влияния, при которых эритроцит работает нормально, требует отдельного исследования.

С нашей точки зрения есть следующие эксперименты, которые говорят о наличии СС с триггерными свойствами. У эритроцитов есть механорецептор, увеличивающий проницаемость для кальция при механическом раздражении. В работе [18] показано, что в исходном состоянии у всех эритроцитов концентрация кальция около 10^{-7} М. При прохождении эритроцита через капилляр, диаметр которого 4-5 мкм (меньше диаметра эритроцита) у 30% эритроцитов регистрируется концентрации кальция около 10^{-6} М у остальных 10^{-7} М. Пока непонятно почему стационарно увеличилась концентрация кальция и как объяснить это увеличение только у 30% эритроцитов. Если допустить существова-

ние СС (5.3), то этот результат может быть проинтерпретирован таким образом, что при вхождении в капилляр у всех эритроцитов концентрация кальция увеличивается до 10^{-6}M , а при выходе из капилляра и повторном механическом раздражении она возвращается к исходному значению только у 70% эритроцитов. То есть 70% эритроцитов имеют такие значения параметров и скорость прохождения через капилляр такова, что они при первом механическом раздражении переходят из стационарного состояния **а** в **с**, а при втором возвращаются обратно (Рис. 4.12), а 30% после перехода в **с** при втором импульсе так в **с** и остаются. И скорее всего, это не характеристика любых эритроцитов, а только свойства образца, с которыми работали в [18]. Приведенные в этой работе результаты являются косвенным подтверждением существования СС, о которой мы говорим.

Показано, что по мере старения эритроцитов в них увеличивается концентрация кальция [6]. Если у молодых эритроцитов она составляет в среднем $0.62 \cdot 10^{-7}\text{M}$, то у старых около $2 \cdot 10^{-7}\text{M}$, эти значения в области стационарной особой точки **а** (Рис. 4.4b). О каких-то триггерных переключениях в этом случае говорить нельзя. Скорее всего, это указывает на то, что по мере старения эритроцитов система кальциевого гомеостаза деградирует.

Сейчас показано, что на АГ эритроцитов влияют как состояние определенных мембранных белков, так и концентрации определенных белков плазмы крови, покрывающих поверхность клетки. Мы полагаем, что на АГ будет также оказывать влияние разброс эритроцитов по состояниям с разной степенью фосфорилирования белков EFх (в особых точках **а**, **с**). Эритроциты, находящиеся в **с** в сосудах будут способствовать обрыванию роста монетных столбиков, поскольку в этом состоянии агрегативность низкая. Чем больше эритроцитов находится в состоянии **с**, когда они идут по крупным сосудам, тем будет короче средняя длина монетных столбиков. И когда все эритроциты в **с**, то монетные столбики будут минимальными. В этом случае будет и минимальная скорость осаждения эритроцитов.

Таким образом, можно заключить, что если у эритроцита есть СС, подобная той, которая указана на рис. 5.3, то у нее существуют такие значения параметров, при которых АГ, РЛ и РМ переключаются из одного стационарного состояния в другое триггерно с примерно одинаковыми порогами переключения из **а** в **с** и обратно.

В нашей модели используются следующие обозначения параметров, входящих в формулы нашей модели.

Таблица 1

Обозначения общих концентраций белков, входящих в модель

1	$[CM0]$	Общая концентрация кальмодулина.
2	$[IN]$	Концентрация ингибиторов NO.
3	NO_{ST}	Стационарная концентрация NO в плазме крови.
4	$[PDE_20]$	Общая концентрация фосфодиэстеразы PDE_2 .
5	$[PDE_30]$	Общая концентрация фосфодиэстеразы PDE_3 .
6	$[PDE_50]$	Общая концентрация фосфодиэстеразы PDE_5 .
7	$[AC110]$	Общая концентрация аденилатциклазы $AC11$.
8	$[GC0]$	Общая концентрация гуанилатциклазы sGC .
9	N_0	Общая концентрация фосфопротеин фосфатазы.
10	A_0	Общая концентрация белков EF1, EF2, EF3.
11	$[PKA0]$	Общая концентрация cAMP зависимой протеинкиназы.
12	$[cGMPPK0]$	Общая концентрация cGMP зависимой протеинкиназы.

Обозначение констант Михаэлиса

	Обозначение	Пояснение
1	K_{CaM}^A	Константа Михаэлиса реакции комплексообразования кальмодулина с каналом активного транспорта
2	K_{CaM}^K	Константа Михаэлиса реакции комплексообразования кальмодулина с кальций зависимым калиевым каналом
3	K_{CaM}^{AC}	Константа Михаэлиса реакции комплексообразования кальмодулина с AC.
4	$K_{CaM}^{PDE_5}$	Константа Михаэлиса реакции комплексообразования кальмодулина с PDE ₅ .
5	K_{CaM}^{NOS}	Константа Михаэлиса реакции комплексообразования кальмодулина с NOS.
6	K_{LARG}^{NOS}	Константа Михаэлиса ферментативной реакции образования NO из L-аргинина, при участии кислорода и NADPH.
7	K_{NO}^{IN}	Константа Михаэлиса реакции нейтрализации NO.
8	K_{CaIn}^A	Константа Михаэлиса реакции комплексообразования кальция с центром канала активного транспорта на внутренней стороне мембраны.
9	K_{Caout}^A	Константа Михаэлиса реакции комплексообразования кальция с центром канала активного транспорта на внешней стороне мембраны
10	K_{CaM}^K	Константы Михаэлиса реакции комплексообразования кальмодулина с калиевым каналом.
11	K_{cAMP}^{PKA}	Константы Михаэлиса реакции комплексообразования cAMP с PKA.

12	K_{cGMP}^{PKG}	Константы Михаэлиса реакции комплексообразования cGMP с PKG.
13	K_{cAMP}^{AQP1}	Константы Михаэлиса реакции комплексообразования cAMP с AQP1 каналом.
14	K_{cGMP}^{AQP1}	Константы Михаэлиса реакции комплексообразования cGMP с AQP1 каналом.
15	K_{ATP}^{AC}	Константы Михаэлиса реакции комплексообразования АТФ с АС.
16	K_{GTP}^{GC}	Константы Михаэлиса реакции комплексообразования GTP с GC.
17	K_{NO}^{IN}	Константы Михаэлиса реакции нейтрализации NO.
18	K_{LARG}^{NOS}	Константы Михаэлиса реакции синтеза NO.

Таблица 3.

Обозначение параметров ионных каналов

1	N_{mex+L}^{Ca}	Количество механоактивируемых и потенциал зависимых кальциевых каналов на 1 мкм ² .
2	N_{con}^{Ca}	Количество условных кальциевых каналов на 1 мкм ² .
3	N_{AQP1}	Количество AQP1 каналов на 1 мкм ² .
4	N_A	Количество кальциевых каналов активного транспорта на 1 мкм ² .
5	N_K^{CaM}	Количество кальций кальмодулин зависимых калиевых каналов на 1 мкм ² .
6	N_K^V	Количество потенциал зависимых калиевых каналов на 1 мкм ² .
7	N_{Na-K}^{ATPase}	Количество каналов Na-K ATPase на 1 мкм ² .
8	N_{Mg}^{ATPase}	Количество каналов Mg ATPase на 1 мкм ² .

9	i_A^{\max}	Максимальный кальциевый ток одиночного канала активного транспорта кальция.
10	i_{Na-K}^{\max}	Максимальный ток одиночного канала Na-K ATPase.
11	i_{Mg}^{\max}	Максимальный магниевый ток одиночного канала активного транспорта магния.
12	g_{tex}^{Ca}	Кальциевая проводимости одиночных механоактивируемых каналов.
13	g_L^{Ca}	Кальциевая проводимости одиночных потенциал зависимых кальциевых каналов.
14	g_{AQP1}^{Ca}	Проводимости одиночных AQP1 каналов для ионов кальция.
15	g_{con}^{Ca}	Кальциевая проводимости одиночных условных кальциевых каналов.
16	g_{Kmax}^{CaM}	Проводимость одиночных кальций кальмодулин зависимых калиевых каналов.
17	$g_K^{V\max}$	Проводимость одиночных потенциал зависимых калиевых каналов.

Таблица 4.

Обозначения и численные значения параметров, которые используются в модели. Катионы эритроцита

1	h	Нормирующий параметр.	10^{-6} М
2	$[Ca_{out}^{2+}]$	Концентрация кальция во внешней среде.	2.4 мМ
3	Ca_{out} $= [Ca_{out}^{2+}]/h$	Безразмерная концентрация кальция во внешней среде.	2400
4	$[Ca_{in}^{2+}]$	Концентрация кальция в эритроци-	10^{-8} ÷

		те.	10^{-5}M
5	$ca = [Ca_{in}^{2+}]/h$	Безразмерная концентрация кальция в эритроците.	$10^{-2} \div 10$
6	$[K_{out}^{+}]$	Концентрация калия во внешней среде.	2.4 мМ
7	$[K_{in}^{+}]$	Концентрация калия в эритроците.	90 мМ
8	$[Na_{out}^{+}]$	Концентрация натрия во внешней среде.	123 мМ
9	$[Na_{in}^{+}]$	Концентрация натрия в эритроците.	10 мМ
10	$[Mg_{out}^{2+}]$	Концентрация магния во внешней среде.	1 мМ
11	$[Mg_{in}^{2+}]$	Концентрация магния в эритроците.	0.2 мМ

Таблица 5

Основные переменные и параметры

1	r	Нормирующий параметр.	10^3c^{-1}
2	t	Время.	$0 \div 5\text{ c}$
3	$\tau = t$	Безразмерное время.	$0 \div 500$ 0
4	V	Трансmemбранная разность потенциалов	$-200 \div 75\text{ mV}$
5	$v = \frac{V}{V_{\text{Эп}}}$	Безразмерная трансmemбранная разность потенциалов.	$-9 \div 3$
6	$V_{\text{Эп}}$	Объем эритроцита.	≈ 80

			мкм ³
7	$C_{\text{Эр}}$	Электрическая емкость эритроцита.	$\approx 1.4 \cdot 10^{-12} \Phi$
8	$C_{\text{уд}}$	Удельная емкость мембраны эритроцита ($\Phi/\text{см}^2$).	$\approx 10^{-6} \Phi/\text{см}^2$
9	$S_{\text{Эр}}$	Площадь поверхности эритроцита.	≈ 140 мкм ²
10	d	Толщина мембраны эритроцита	≈ 0.01 мкм

Таблица 6

Численные значения параметров модели

1		3 наче- че- ние па- ра- мет- ра мо- дели		Оценка физиоло- гичности значений пара- метров
2	$k_{CaM}^{AC} = K_{CaM}^{AC} / [CM0]$	2	m 1	$K_{CaM}^{AC} \approx 2 \cdot 10^{-5} M$ [CM0] $\approx 10^{-5} M$
3	$k_{CaM}^{PDE_5} = K_{CaM}^{PDE_5} / [CM0]$	0 .5	m 4	$K_{CaM}^{PDE_5} \approx 0.5 \cdot 10^{-5} M$ [CM0] $\approx 10^{-5} M$
4	$k_{CaM}^{NOS} = K_{CaM}^{NOS} / [CM0]$	0	m	$K_{CaM}^{NOS} \approx 0.5 \cdot 10^{-6} M$

		.05	5	$[CM0] \approx 10^{-5}M$
5	$k_{CaM}^A = K_{CaM}^A / [CM0]$	1 0	m 8	$K_{CaM}^A \approx 10^{-4}M$ $[CM0] \approx 10^{-5}M$
6	$k_{CaM}^K = K_{CaM}^K / [CM0]$	1	m 11	$K_{CaM}^K \approx 1.5 \cdot 10^{-5}M$ $[CM0] \approx 10^{-5}M$
7	$\gamma_{Ca}^{in} = K_{CaM}^A / h$	2 5	m 9	$K_{CaM}^A \approx 2.5 \cdot 10^{-5}M$ $h \approx 10^{-6}M$
8	$\gamma_{Ca}^{out} = K_{CaM}^A / h$	2 100	m 10	$K_{CaM}^A \approx 2.05 \cdot 10^{-3}M$ $h \approx 10^{-6}M$
9	η_{AQP1}^0	0 .002	c aut	$\eta_{AQP1}^0 = 0.002$
10	$v_{AQP1}^{Na} = \frac{g_{AQP1}^{Na}(V)}{g_{AQP1}^{Ca}(V)}$	0 .5	g na	$v_{AQP1}^{Na} = 0.5$
11	$v_{AQP1}^{Mg} = \frac{g_{CNG}^{Mg}(V)}{g_{CNG}^{Ca}(V)},$	0 .1	g mg	$v_{AQP1}^{Mg} = 0.1,$
12	$v_{AQP1}^K = \frac{g_{CNG}^K(V)}{g_{CNG}^{Ca}(V)}$	0 .1	a al	$v_{AQP1}^K = 0.1$
13	$k_{AQP1}^{cAMP} = \frac{K_{AQP1}^{cAMP}}{K_{ATP}^{AC}}$	3 0	u pka	$K_{AQP1}^{cAMP} = 3 \cdot 10^{-5}M$ $K_{ATP}^{AC} = 10^{-6}M$
14	$k_{AQP1}^{cGMP} = \frac{K_{AQP1}^{cGMP}}{K_{GTP}^{GC}}$	1 0	u cgmpk	$K_{AQP1}^{cGMP} = 10^{-5}M$ $K_{GTP}^{GC} = 10^{-6}M$
15		1	a 1	1
16	$h_{Ca}^A = \frac{N_A \cdot i_A^{\max} \cdot F}{N_{AQP1} \cdot g_{AQP1}^{Ca} \cdot R \cdot T}$	8 30	a 2	Максимальный кальциевый ток через каналы активного транспорта в 207 раз

				больше максимально- го кальциевого тока AQP1 каналов.
17	$h_K^{CaM} = \frac{N_K \cdot g_K^{CaMmax}}{N_{AQP1} \cdot g_{AQP1}^{Ca}}$	3	a 3	Максимальный калиевый ток через кальций кальмодулин зависимые каналы в 3 раз больше макси- мального кальциевого тока AQP1 каналов.
18	$h_K^V = \frac{N_K^V \cdot g_K^{Vmax}}{N_{AQP1} \cdot g_{AQP1}^{Ca}}$	0 .1	a 5	Максимальный калиевый ток через потенциал зависимые каналы составляет 0.1 от максимального кальциевого тока AQP1 каналов.
19	$p_1 = \frac{d_1 \cdot a \cdot V_{ЭП} \cdot d}{S_{ЭП} \cdot D_{NO}}$	3	r 1	$d_1 \approx 3 \cdot 10^3 c^{-1}$ $a = 1, d = 0.01 \text{ мкм},$ $D_{NO} = 1.67 \cdot 10^{-7} \frac{\text{см}^2}{\text{с}}$
20	$p_2 = \frac{d_2 \cdot V_{ЭП} \cdot d}{S_{ЭП} \cdot D_{NO}}$	4	r 2	$d_2 \approx 3 \cdot 10^3 c^{-1}$ $D_{NO} = 1.67 \cdot 10^{-7} \frac{\text{см}^2}{\text{с}}$ $d = 0.01 \text{ мкм}$
21	$in = [IN] / K_{NO}^{IN}$	0 .1	i ng	$K_{NO}^{IN} = 10^{-9} M$ $[IN] = 10^{-10} M$

22	$k_{NO}^{GC} = K_{NO}^{GC} / K_{NO}^{IN}$	4	k no1	$K_{NO}^{IN} = 10^{-9} M$ $K_{NO}^{GC} = 4 \cdot 10^{-9} M$
23	$no_{ST} = [NO_{ST}] / K_{NO}^{IN}$	0	N Ost	
24	stA	0 .02	fs tA	
25	f_{st}^{AC}	0 .1	fs t1	
26	$pde_2 = \frac{[PDE_2 0]}{[PDE_5 0]}$	0 .2	fs t2	$[PDE_2 0] = 0.2 \cdot 10^{-5} M$ $[PDE_5 0] = 10^{-5} M$
27	$f_{st}^{PDE_5}$	0 .1	fs t4	
28	f_{st}^{NOS}	0 .05	fs t5	
29	f_{st}^{GC}	0 .2	fs t6	
30	$\mu_{cAMP} = \frac{k_2 \cdot [PDE_2 0] + [PD]}{k_1 \cdot [ACII 0]}$ $[ATP] \gg K_{AC}$	1 .8	u amp	При $k_2 \approx k_1$ $[PDE_2 0] + [PDE_3 0] =$ $= 1.8 \cdot [AII 0],$
31	$\mu_{cGMP} = \frac{k_4 \cdot [PDE_5 0]}{k_3 \cdot [GC 0]},$ $[GTP] \gg K_{GC}$	1 .2	u gmp	При $k_3 \approx k_4$ $[PDE_5 0] = 1.2 \cdot [GC 0],$
32	$w_0 = \frac{S_{эп} \cdot RT \cdot N_{AQP1} \cdot g_{AQP1}^{Ca}}{V_{эп} \cdot 2 \cdot F^2 \cdot h \cdot r}$	0 .61		
33	$w_1 = \frac{N_{AQP1} \cdot g_{AQP1}^{Ca}}{r \cdot C_{y0}}$	1 .425		

Потенциал зависимость калиевых каналов и AQP1 каналов нами рассчитывалась по следующей формуле:

$$\eta_i(v) = \frac{(1 - stI) \cdot \exp(\alpha_i \cdot (v + d_i))}{\lambda_i + \exp(\alpha_i \cdot (v + d_i))} + stI$$

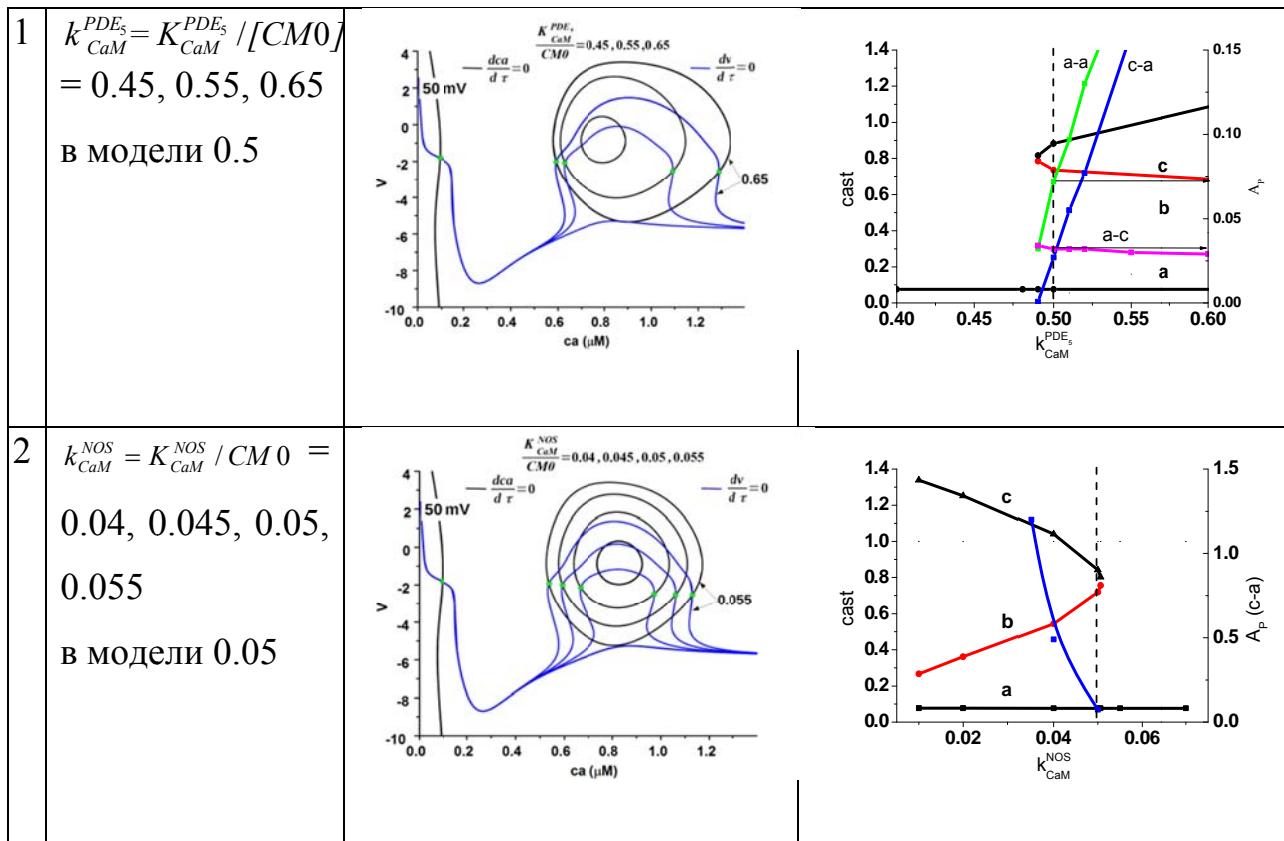
Таблица 7.

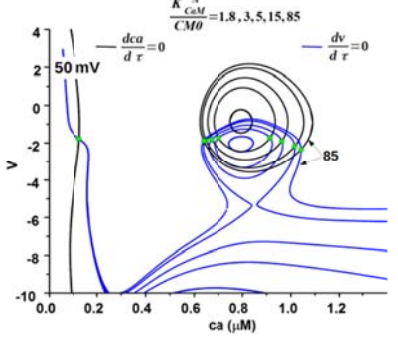
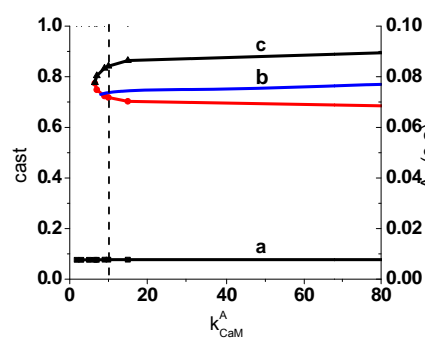
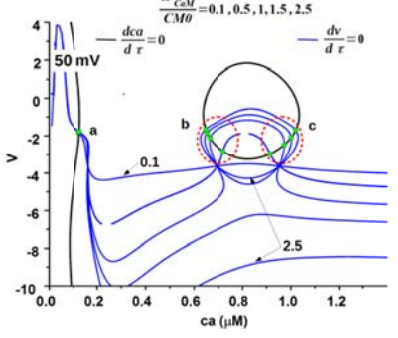
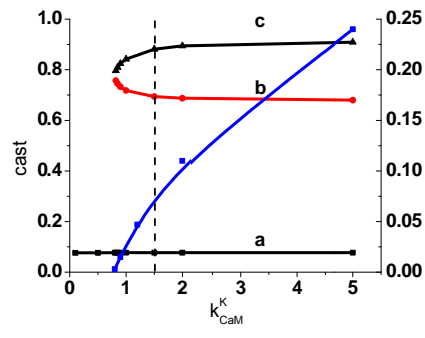
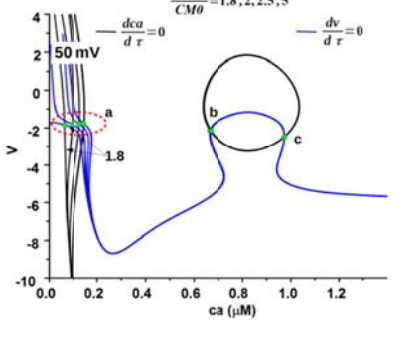
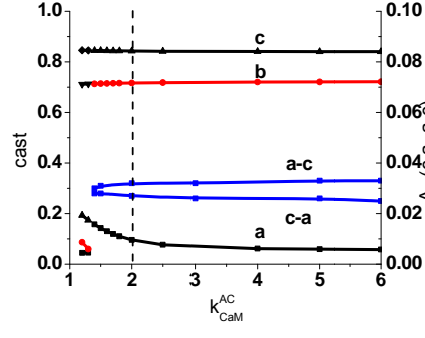
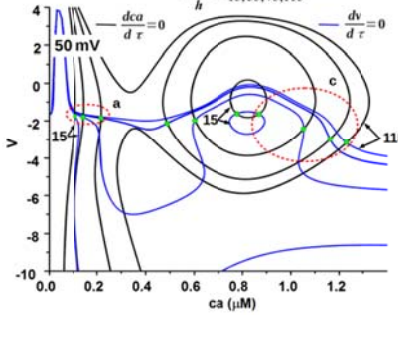
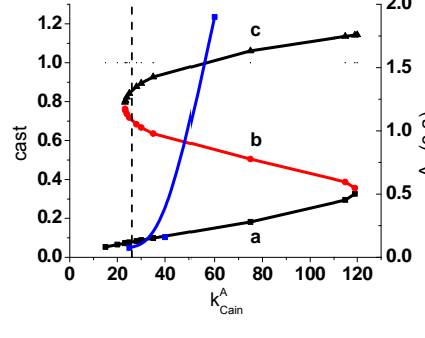
Значения параметров, определяющих потенциал зависимость каналов

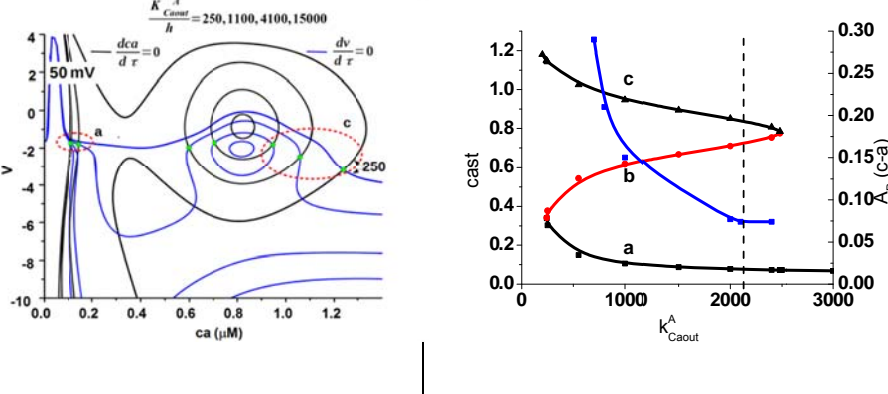
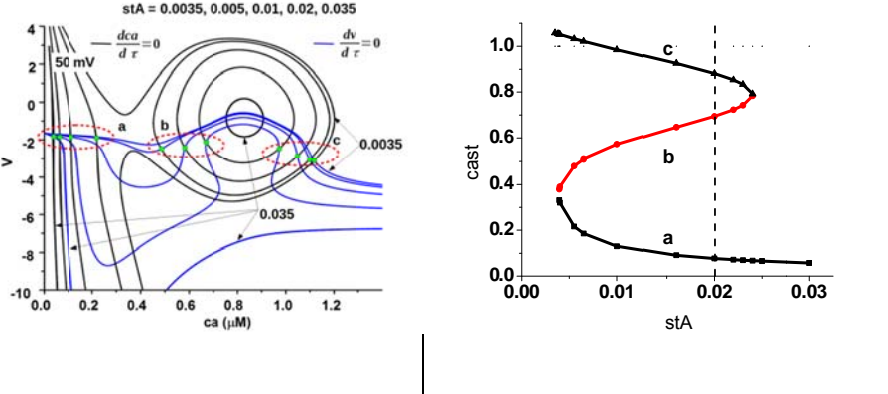
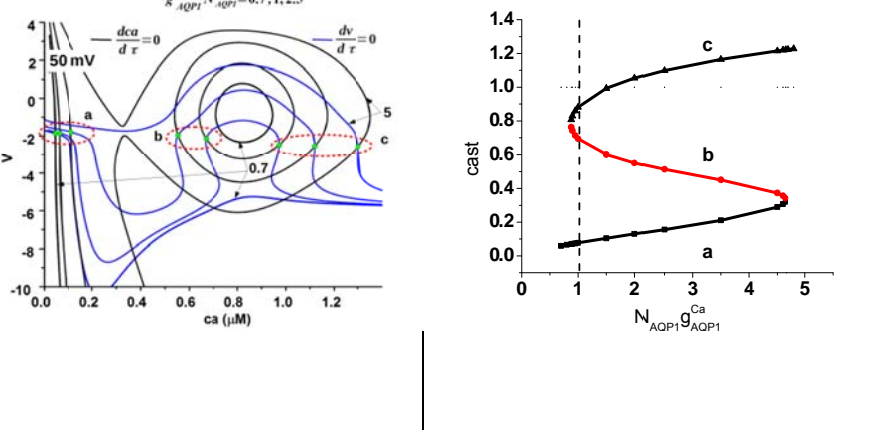
Для калиевых каналов	$\alpha_K = 4$	$stK = 0$	$d_K = 1$	$\lambda_K = 0.2$
Для AQP1 кана- лов	$\alpha_{AQP1} =$	$stAQP1$	$d_{AQP1} =$	$\lambda_{AQP1} = 0.2$

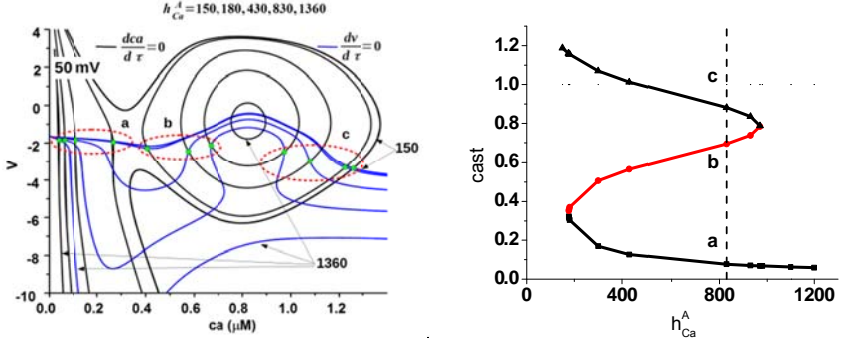
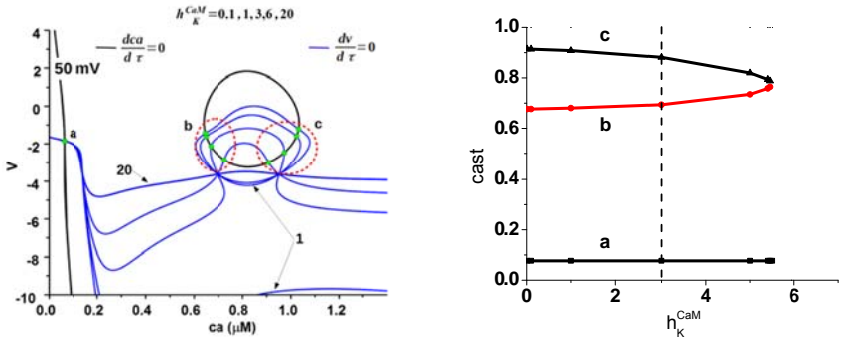
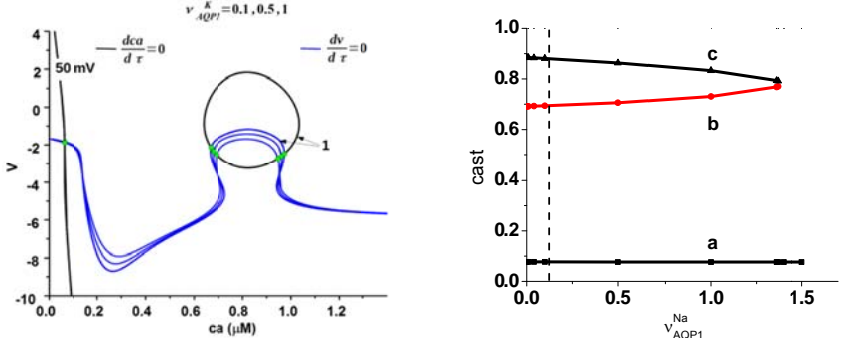
Таблица 8.

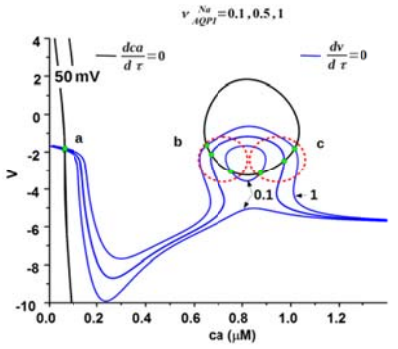
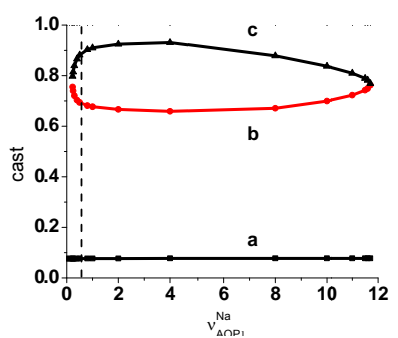
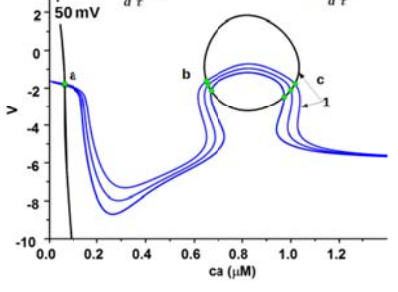
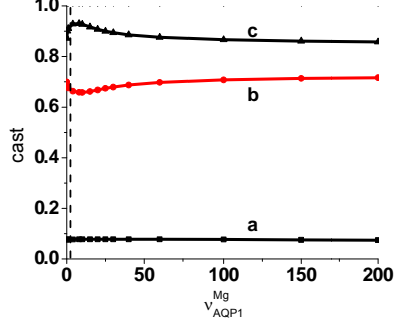
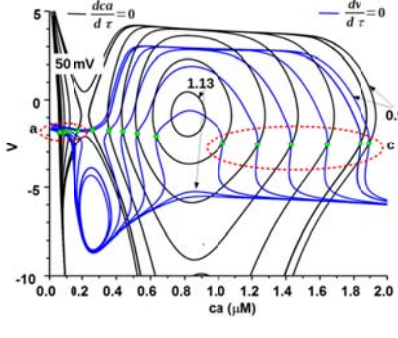
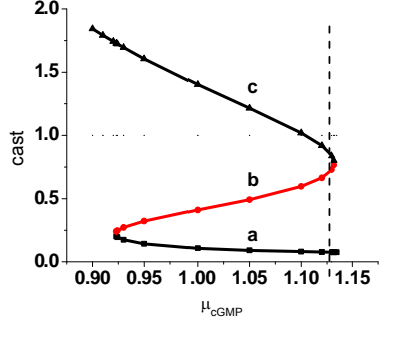
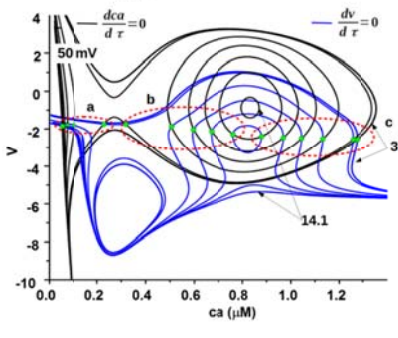
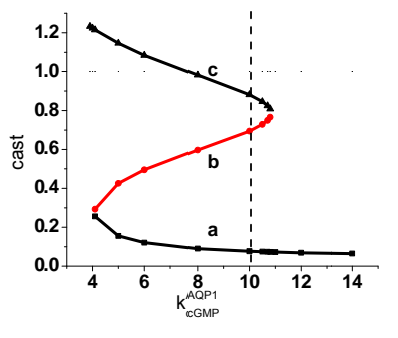
Вклад параметров модели в структуру нуль изоклин и положение особых точек.

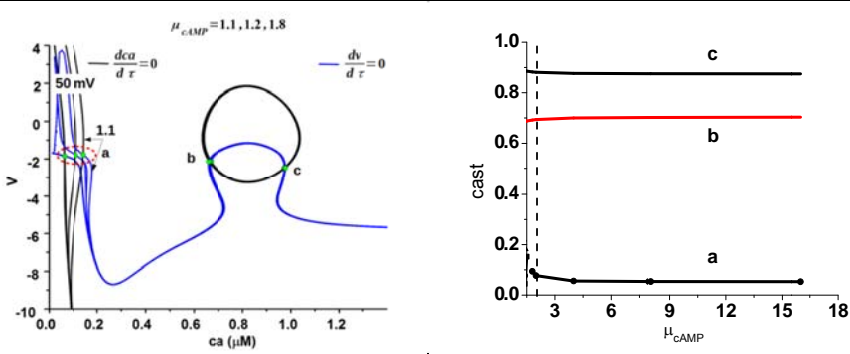
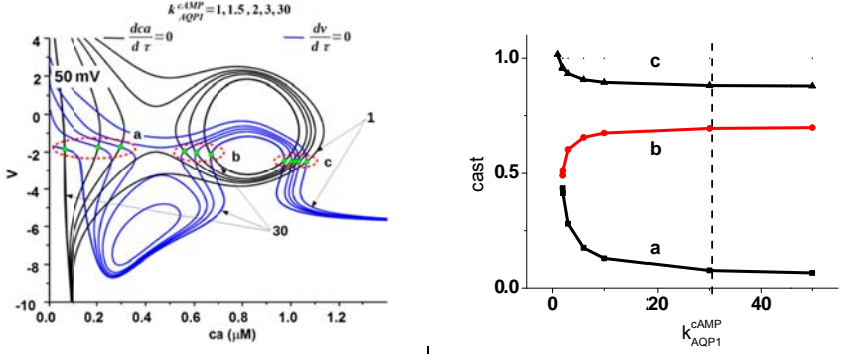
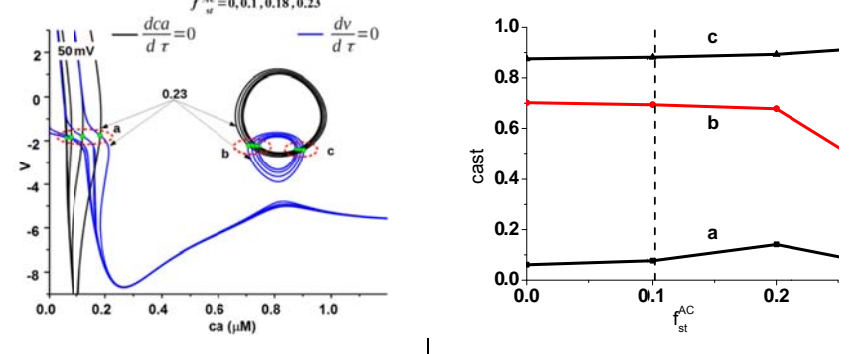
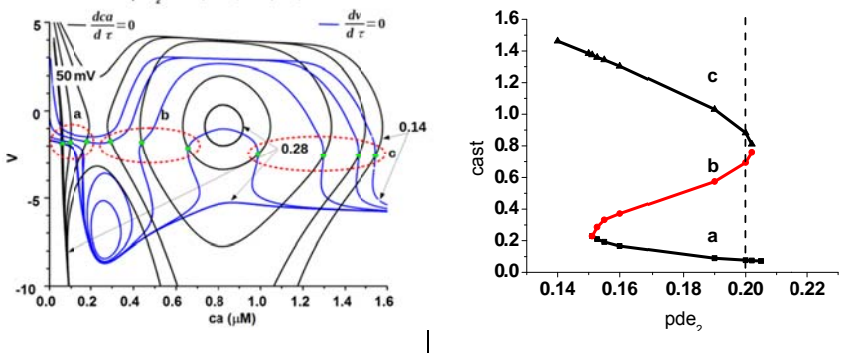


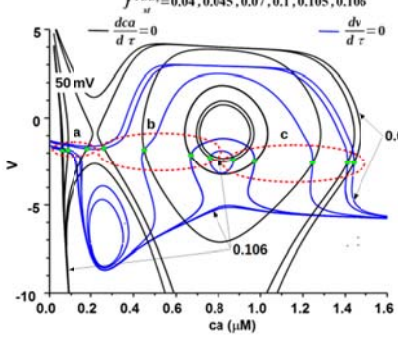
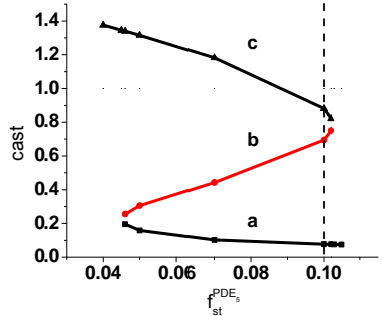
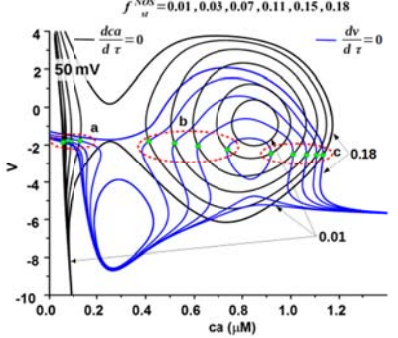
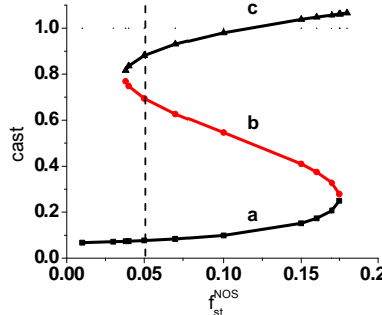
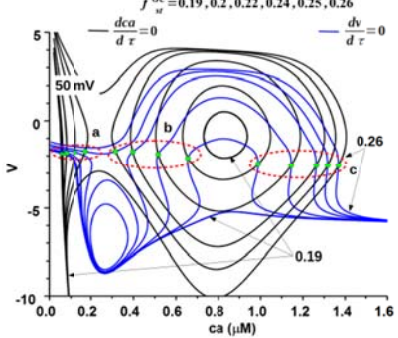
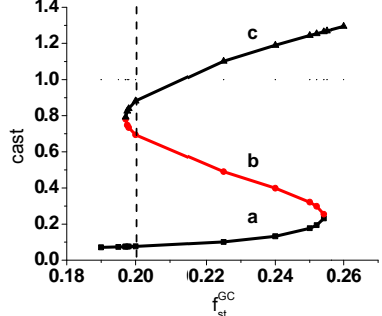
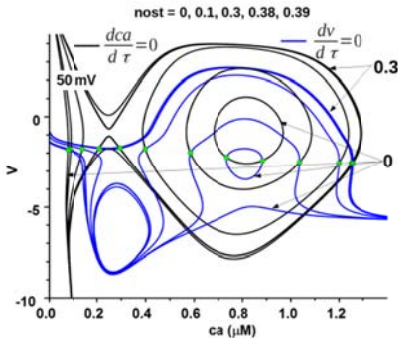
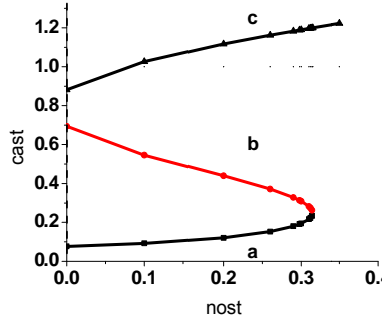
3	$k_{CaM}^A = K_{CaM}^A / CM0$ $= 1.8, 3, 5, 15, 85$ в модели 10		
4	$k_{CaM}^K = K_{CaM}^K / CM0$ $= 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2.5$ в модели 1.5		
5	$k_{CaM}^{AC} = \frac{K_{CaM}^{AC}}{[CM0]}$ $=$ $1.8, 2, 2.5, 5$ в модели 2		
6	$k_{Cain}^A = K_{Cain}^A / h$ $=$ $15, 35, 75, 115$ в модели 25		

7	$k_{Caout}^A = K_{Caout}^A / h =$ 250, 1100, 4100, 15000 в модели 2100	
8	Кальций каль- модулин неза- висимый уро- вень активности каналов актив- ного транспорта. stA = 0.0035, 0.005, 0.01, 0.02, 0.035 в модели 0.02	
9	Суммарная кальциевая проводимость AQP1 каналов. $N_{AQP1} \cdot g_{AQP1}^{Ca} = 0.7,$ 1, 2.5 в модели 1	

<p>10</p> <p>Отношение суммарной проводимости = $\frac{N_A \cdot i_A^{\max} \cdot F}{R \cdot T}$ кальциевых каналов активного транспорта к суммарной кальциевой проводимостью AQP1 каналов.</p> <p>$h_{Ca}^A = \frac{N_A \cdot i_A^{\max} \cdot F}{N_{AQP1} \cdot g_{Ca} \cdot R}$</p> <p>= 150, 180, 430, 830, 1360</p> <p>в модели 830</p>		
<p>11</p> <p>$h_K^{CaM} = \frac{N_K \cdot g_K^{CaMmax}}{N_{AQP1} \cdot g_{Ca}^{AQP1}} =$</p> <p>0.1, 1.3, 20</p> <p>в модели 3</p>		
<p>12</p> <p>$v_{AQP1}^K = \frac{g_{CNG}^K(V)}{g_{CNG}^{Ca}(V)} =$</p> <p>0.1, 0.5, 1</p> <p>в модели 0.1</p>		

<p>13</p>	$v_{AQP1}^{Na} = \frac{g_{AQP1}^{Na}(V)}{g_{Ca}(V)} =$ <p>0.1, 0.5, 1</p> <p>в модели 0.5</p>		
<p>14</p>	$v_{AQP1}^{Mg} = \frac{g_{CNG}^{Mg}(V)}{g_{CNG}(V)} =$ <p>0.1, 0.5, 1</p> <p>в модели 0.1</p>		
<p>15</p>	$\mu_{cGMP} = \frac{k_4 \cdot [PDE_5] \cdot (K_{GC} + [GTP])}{k_3 \cdot [GC] \cdot [GTP]}$ <p>= 0.9, 0.91, 0.95, 1, 1.05, 1.1, 1.13</p> <p>в модели 1.1255</p>		
<p>16</p>	$k_{cGMP}^{AQP1} = \frac{K_{cGMP}^{AQP1}}{K_{GTP}^{GC}} =$ <p>3.9, 4.1, 6.1, 8.1, 10.1, 12.1, 14.1</p> <p>в модели 10</p>		

17	$\mu_{cAMP} = \frac{k_2 \cdot ([PDE_2 0] + [PDE_3 0])}{k_1 \cdot [ACPII 0]}$ $ATP \gg K_{AC}$ $= 1.1, 1.2, 1.8$ <p>в модели 2</p>	
18	$k_{AQP1}^{cAMP} = \frac{K_{AQP1}^{cAMP}}{K_{ATP}^{AC}} = 1,$ $1.5, 2, 3, 30$ <p>в модели 30</p>	
19	$f_{st}^{AC} = 0, 0.1,$ $0.18, 0.23$ <p>в модели 0.1</p>	
20	$pde_2 = \frac{[PDE_2 0]}{[PDE_5 0]} =$ $0.14, 0.15, 0.17,$ $0.2, 0.28$ <p>в модели 0.2</p>	

21	$f_{st}^{PDE_5} = 0.04, 0.045, 0.07, 0.1, 0.105, 0.106$ в модели 0.1		
22	$f_{st}^{NOS} = 0.01, 0.03, 0.07, 0.11, 0.15, 0.18$ в модели 0.05		
23	$f_{st}^{GC} = 0.19, 0.2, 0.22, 0.24, 0.25, 0.26$ в модели 0.2		
24	$n_{ost} = 0, 0.1, 0.3, 0.38, 0.39$ в модели 0		

25	<p>Caout = 0.6 – 122 mM</p> <p>в модели 2.4</p>		
26	<p>$h_K^V = \frac{N_K^V \cdot g_K^{I_{max}}}{N_{AQPI} \cdot g_{AQPI}^{Ca}} =$</p> <p>0.01, 0.3, 2, 4</p> <p>в модели 0.3</p>		
27	<p>$p_1 = 2.95, 3, 3.1, 3.2$</p> <p>в модели 3</p>		
28	<p>$p_2 = 2, 3, 4, 4.5, 5$</p> <p>в модели 4</p>		

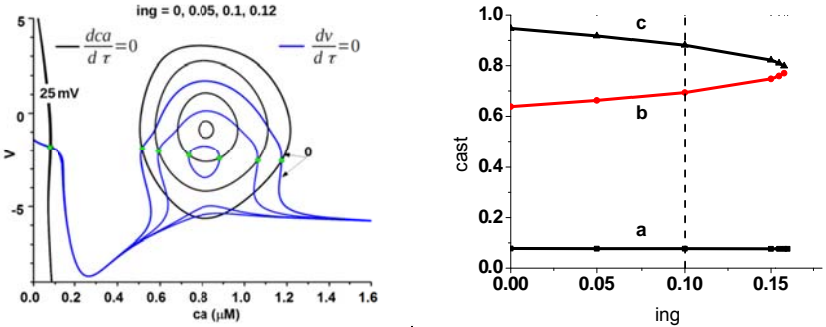
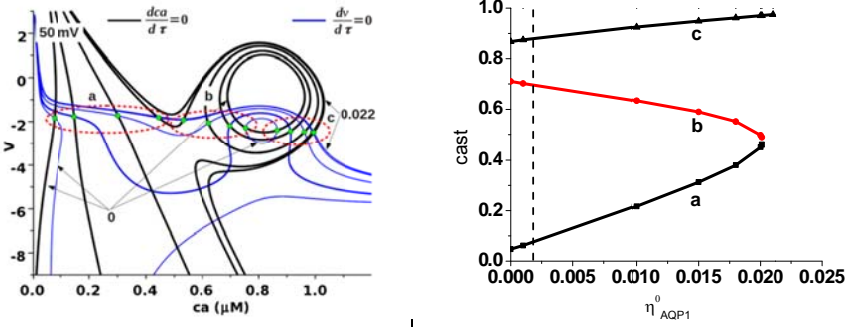
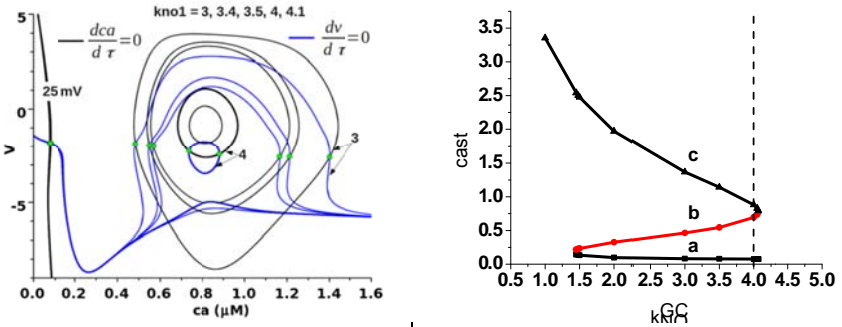
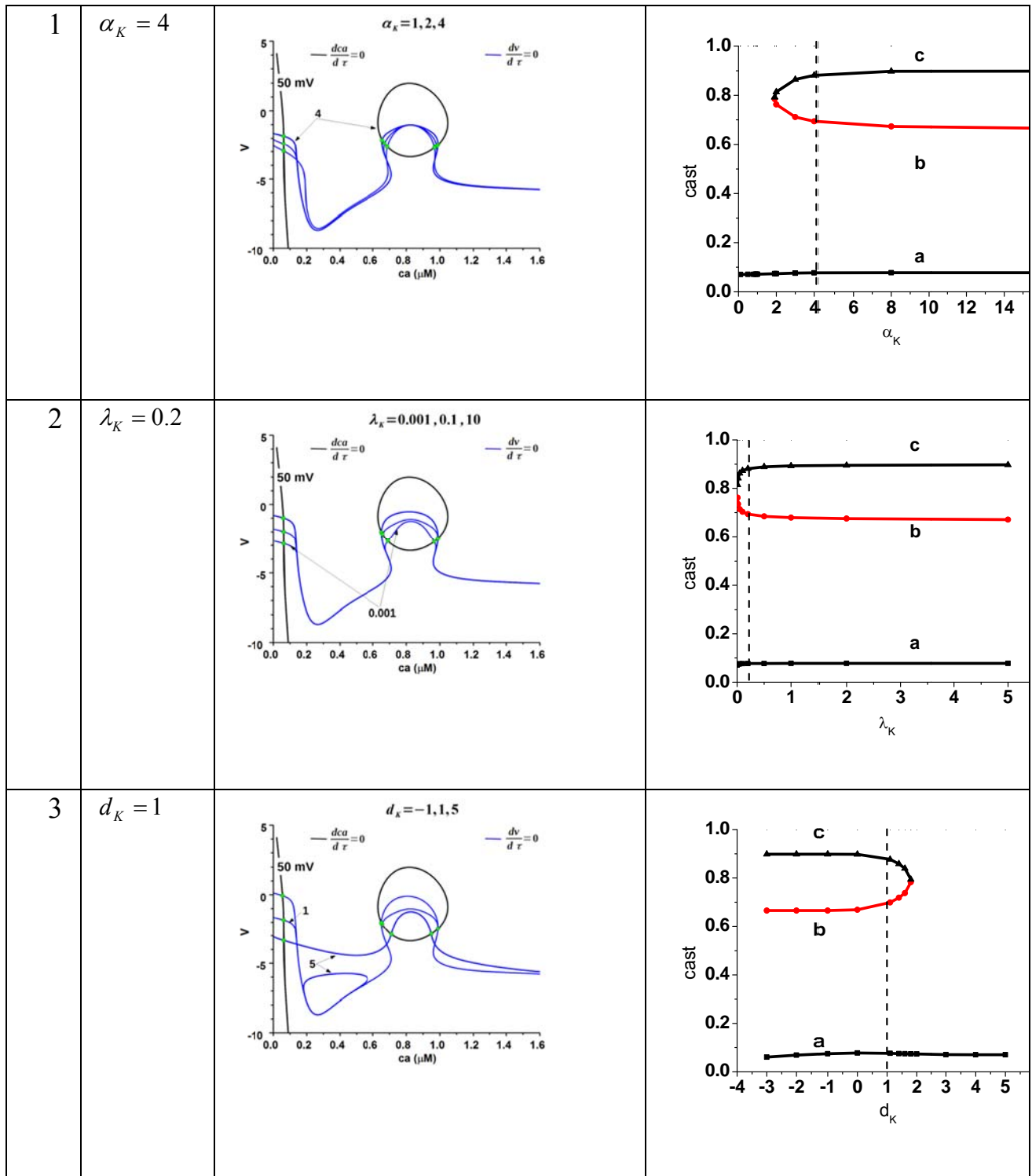
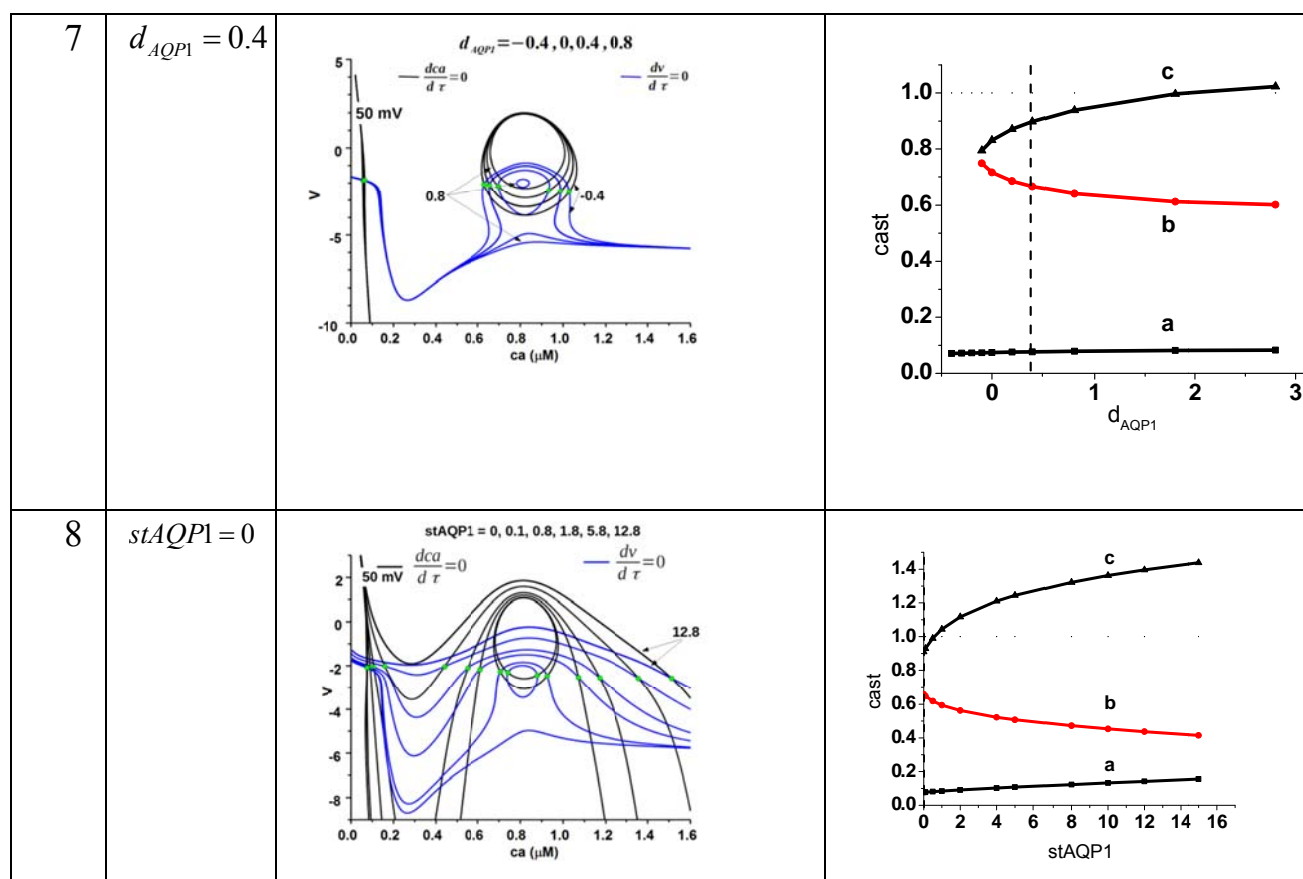
29	$ing = 0, 0.05, 0.1, 0.12,$ в модели 0.1	
30	$\eta_{AQP1}^0 = 0.006, 0.015, 0.021, 0.022$ в модели 0.002	
31	$k_{NO}^{GC} = K_{NOGC} / K_{NO}$ $= 3, 3.4, 3.5, 4, 4.1$ в модели 4	

Таблица 9



4	$stK = 0$		
5	$\alpha_{AQP1} = 0.9$ all = 0.4, 0.5, 0.9, 1.2		
6	В МОДЕЛИ $\lambda_{AQP1} = 0.2$		



5.5 Влияние ингибиторов на параметры эритроцитов

Влияние ингибиторов кальмодулина, концентрации NO в плазме крови, активаторов аденилатциклазы, концентрации KCl на агрегативность эритроцитов

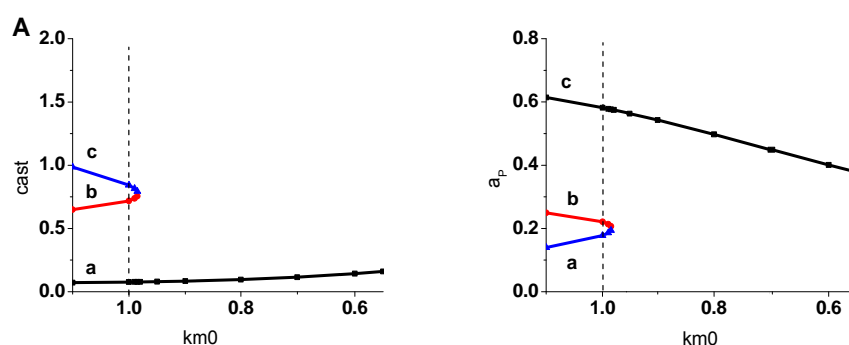


Рис. 5.14. А) Зависимость стационарной концентрации кальция в эритроците (cast) от общей концентрации кальмодулина (km0). В) Зависимость уровня фосфорилированных белков a_p от общей концентрации кальмодулина

Влияние ингибиторов кальмодулина на агрегативность эритроцитов. Расчеты показывают, что ингибиторы кальмодулина (хлорпромазин) будут уменьшать агрегативность эритроцитов, которая пропорциональна уровню фосфорилированного белка EFx.

Влияние веществ увеличивающих концентрацию NO в крови. При повышении концентрации NO в крови агрегативность будет падать. И при некоторой критической концентрации NO агрегативность уменьшится резко, а деформабильность резко увеличивается. Остается одна стационарная особая точка с концентрацией кальция порядка 1200nM (триггерных переключений нет). В этом случае эритроциты при прохождении через капилляр с диаметром меньшим, чем диаметр эритроцита, все время остаются в одном состоянии с низкой агрегативностью, с высокой деформабильностью и высокой проницаемостью мембраны для газов. На рис. 5.11А показана зависимость уровня фосфорилированных белков a_p от концентрации кальция при разных концентрациях NO в плазме крови. На рис. 11В представлена зависимость стационарных концентраций кальция в эритроците от концентрации NO в плазме крови. На рис. 11С представлена зависимость концентрации нефосфорилированных белков EFx в эритроците от концентрации NO в плазме крови.

При увеличении концентрации KCl в плазме крови путем эквивалентной замены им NaCl агрегативность практически не изменяется. Однако, при уменьшении концентрации KCl менее некоторого критического значения (в наше модели 1.77 mM) остается только одно стационарное значение концентрации кальция в эритроците порядка 100nM. В этом случае при прохождении эритроцитов через капилляр диаметром меньше его радиуса все эритроциты будут оставаться в особой точке **a** с низкой концентрацией кальция (триггерных переключений не будет).

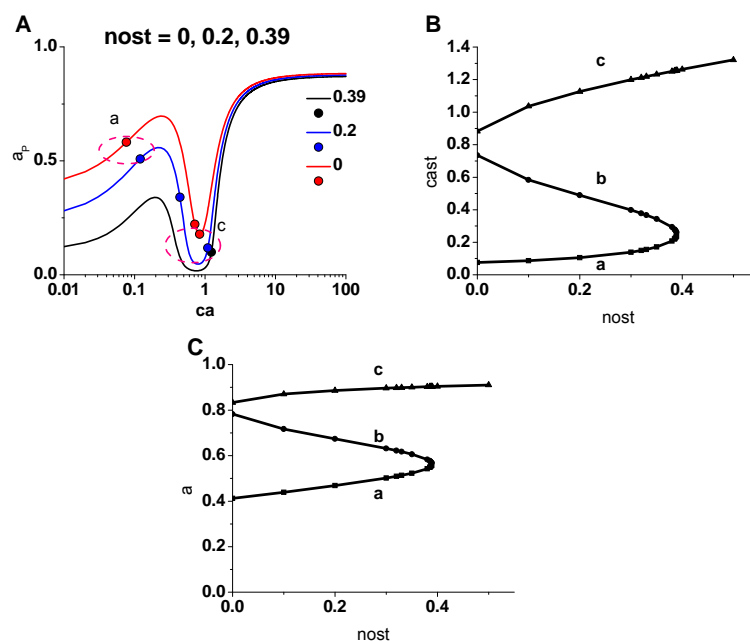


Рис. 5.15. А) Зависимость уровня фосфорилированных белков EFx от концентрации кальция при разных значениях $nost$. В) Зависимость стационарных концентраций кальция в эритроците от концентрации NO в плазме крови. В) Зависимость концентрации нефосфорилированных белков EFx в эритроците от концентрации NO в плазме крови

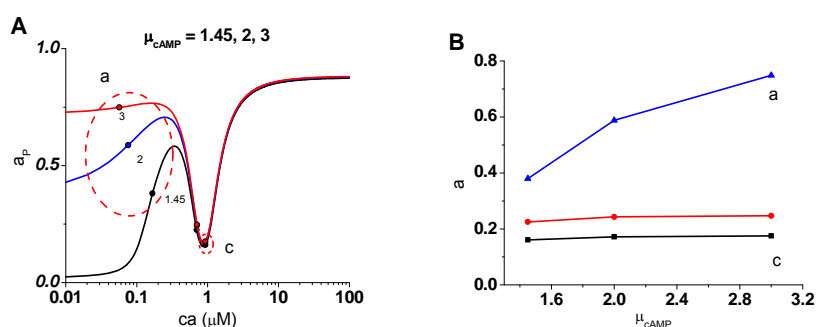


Рис. 5.16. А) Зависимость уровня фосфорилированных белков EFx (a_p) от концентрации кальция при разных уровнях $\mu_{cAMP} = \frac{k_2 \cdot ([PDE_2 0] + [PDE_3 0])}{k_1 \cdot [ACII 0]}$, $ATP \gg K_{AC}$ В) Зависимость уровня нефосфорилированных белков EFx (a) от отношения активности ферментов $\mu_{cAMP} = \frac{k_2 \cdot ([PDE_2 0] + [PDE_3 0])}{k_1 \cdot [ACII 0]}$, $ATP \gg K_{AC}$.

Наши расчеты показывают, что с увеличением активности АСП агрегативность падает.

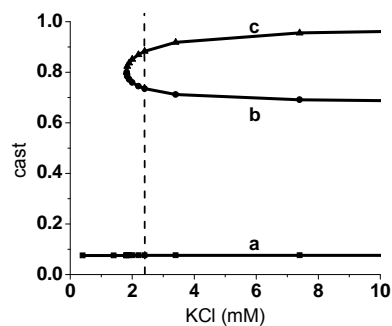


Рис. 5.17. Зависимость положения стационарных особых точек от концентрации KCl в плазме крови. При расчетах проводили замену NaCl на эквивалентное количество KCl

Список литературы

1. Волик Б. Г., Буянов Б. Б. Л.Н.В. и др. Методы анализа и синтеза структур управляющих систем// Энергоатомиздат. [Электронный ресурс]. URL: http://www.alib.ru/au-volik/nm-metody_analiza_sinteza_struktur_upravlyayuwih_sistem/ (accessed: 15.04.2015).
2. Adderley S.P. Identification of cytosolic phosphodiesterases in the erythrocyte: a possible role for PDE5. / S. P. Adderley, K. M. Thuet, M. Sridharan, E. A. Bowles, A. H. Stephenson, M. L. Ellsworth, R. S. Sprague // Med. Sci. Monit. – 2011. – Т. 17 – № 5 – CR241–7с.
3. Aiken N.R. Measurement of intracellular Ca^{2+} in young and old human erythrocytes using ^{19}F -NMR spectroscopy. / N. R. Aiken, J. D. Satterlee, W. R. Galey // Biochim. Biophys. Acta – 1992. – Т. 1136 – № 2 – 155–60с.
4. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter P. Molecular biology of the cell (4th ed.): / P. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter – , 2002.
5. Alonso C. Time-dependent rheological behavior of blood at low shear in narrow vertical tubes. / C. Alonso, A. R. Pries, P. Gaehtgens // Am. J. Physiol. – 1993. – Т. 265 – № 2 Pt 2 – H553–61с.
6. Anthony T.L. Cloned Human Aquaporin-1 Is a Cyclic GMP-Gated Ion Channel / T. L. Anthony, H. L. Brooks, D. Boassa, S. Leonov, G. M. Yanochko, J. W. Regan, A. J. Yool // Mol. Pharmacol. – 2000. – Т. 57 – № 3 – 576–588с.
7. Baskurt O.K. Hemodynamic effects of red blood cell aggregation. / O. K. Baskurt, H. J. Meiselman // Indian J. Exp. Biol. – 2007. – Т. 45 – № 1 – 25–31с.

8. Baskurt O.K. Nitric oxide, erythrocytes and exercise. / O. K. Baskurt, P. Ulker, H. J. Meiselman // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2011. – T. 49 – № 1-4 – 175–81c.
9. Begenisich T. Physiological roles of the intermediate conductance, Ca^{2+} -activated potassium channel K_{cnn4} . / T. Begenisich, T. Nakamoto, C. E. Ovitt, K. Nehrke, C. Brugnara, S. L. Alper, J. E. Melvin // J. Biol. Chem. – 2004. – T. 279 – № 46 – 47681–7c.
10. Bennekou P. The human red cell voltage-regulated cation channel. The interplay with the chloride conductance, the Ca^{2+} -activated K^{+} channel and the Ca^{2+} pump. / P. Bennekou, B. I. Kristensen, P. Christophersen // J. Membr. Biol. – 2003. – T. 195 – № 1 – 1–8c.
11. Bishop J.J. Relationship between erythrocyte aggregate size and flow rate in skeletal muscle venules. / J. J. Bishop, P. R. Nance, A. S. Popel, M. Intaglietta, P. C. Johnson // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2004. – T. 286 – № 1 – H113–20c.
12. Bishop J.J. Rheological effects of red blood cell aggregation in the venous network: a review of recent studies. / J. J. Bishop, A. S. Popel, M. Intaglietta, P. C. Johnson // Biorheology – 2001. – T. 38 – № 2-3 – 263–74c.
13. Borisy F.F. Calcium/calmodulin-activated phosphodiesterase expressed in olfactory receptor neurons. / F. F. Borisy, G. V Ronnett, A. M. Cunningham, D. Juilfs, J. Beavo, S. H. Snyder // J. Neurosci. – 1992. – T. 12 – № 3 – 915–23c.
14. Bor-Kucukatay M. Effects of nitric oxide on red blood cell deformability. / M. Bor-Kucukatay, R. B. Wenby, H. J. Meiselman, O. K. Baskurt // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2003. – T. 284 – № 5 – H1577–84c.

15. Brain M.C. Evidence for a mechanosensitive calcium influx into red cells. / M. C. Brain, C. Pihl, L. Robertson, C. B. Brown // Blood Cells. Mol. Dis. – 2004. – T. 32 – № 3 – 349–52c.
16. Cicco G. Red blood cell (RBC) deformability, RBC aggregability and tissue oxygenation in hypertension. / G. Cicco, A. Pirrelli // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 1999. – T. 21 – № 3-4 – 169–77c.
17. Cokelet G.R. Decreased hydrodynamic resistance in the two-phase flow of blood through small vertical tubes at low flow rates. / G. R. Cokelet, H. L. Goldsmith // Circ. Res. – 1991. – T. 68 – № 1 – 1–17c.
18. Condorelli P. In vivo control of soluble guanylate cyclase activation by nitric oxide: a kinetic analysis. / P. Condorelli, S. C. George // Biophys. J. – 2001. – T. 80 – № 5 – 2110–9c.
19. Cooper G.J. Transport of volatile solutes through AQP1. / G. J. Cooper, Y. Zhou, P. Bouyer, I. I. Grichtchenko, W. F. Boron // J. Physiol. – 2002. – T. 542 – № Pt 1 – 17–29c.
20. Cordero J.F. Caffeine activates a mechanosensitive Ca(2+) channel in human red cells. / J. F. Cordero, P. J. Romero // Cell Calcium – 2002. – T. 31 – № 5 – 189–200c.
21. Das B. Red blood cell velocity profiles in skeletal muscle venules at low flow rates are described by the Casson model. / B. Das, J. J. Bishop, S. Kim, H. J. Meiselman, P. C. Johnson, A. S. Popel // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2007. – T. 36 – № 3 – 217–33c.
22. Dyrda A. Local membrane deformations activate Ca²⁺-dependent K⁺ and anionic currents in intact human red blood cells. / A. Dyrda, U. Cytlak, A.

- Ciuraszkiewicz, A. Lipinska, A. Cueff, G. Bouyer, S. Egée, P. Bennekou, V. L. Lew, S. L. Y. Thomas // PLoS One – 2010. – T. 5 – № 2 – e9447c.
23. Dyrda A. Local membrane deformations activate Ca^{2+} -dependent K^{+} and anionic currents in intact human red blood cells. / A. Dyrda, U. Cytlak, A. Ciuraszkiewicz, A. Lipinska, A. Cueff, G. Bouyer, S. Egée, P. Bennekou, V. L. Lew, S. L. Y. Thomas // PLoS One – 2010. – T. 5 – № 2 – e9447c.
24. Endeward V. Evidence that aquaporin 1 is a major pathway for CO_2 transport across the human erythrocyte membrane. / V. Endeward, R. Musa-Aziz, G. J. Cooper, L.-M. Chen, M. F. Pelletier, L. V Virkki, C. T. Supuran, L. S. King, W. F. Boron, G. Gros // FASEB J. – 2006. – T. 20 – № 12 – 1974–81c.
25. Fidalgo da Silva E. Troponin C/calmodulin chimeras as erythrocyte plasma membrane Ca^{2+} -ATPase activators. / E. Fidalgo da Silva, M. M. Freire, H. Barrabin, M. M. Sorenson, S. Tikunova, J. D. Johnson, M. Chandra, J. R. Pearlstone, H. M. Scofano // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2006. – T. 38 – № 2 – 209–21c.
26. Goldbeter A. An amplified sensitivity arising from covalent modification in biological systems. / A. Goldbeter, D. E. Koshland // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 1981. – T. 78 – № 11 – 6840–4c.
27. Goldbeter A. An amplified sensitivity arising from covalent modification in biological systems. / A. Goldbeter, D. E. Koshland // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1981. – T. 78 – № 11 – 6840–6844c.
28. Goldbeter A. Energy expenditure in the control of biochemical systems by covalent modification. / A. Goldbeter, D. E. Koshland // J. Biol. Chem. – 1987. – T. 262 – № 10 – 4460–71c.

29. Hall C.N. What is the real physiological NO concentration in vivo? / C. N. Hall, J. Garthwaite // Nitric Oxide – 2009. – T. 21 – № 2 – 92–103c.
30. Horga J.F. A beta-2-adrenergic receptor activates adenylate cyclase in human erythrocyte membranes at physiological calcium plasma concentrations. / J. F. Horga, J. Gisbert, J. C. De Agustín, M. Hernández, P. Zapater // Blood Cells. Mol. Dis. – 2000. – T. 26 – № 3 – 223–8c.
31. Ivanov I.I. Oxygen channels of erythrocyte membrane / I. I. Ivanov, A. V. Loktyushkin, R. A. Gus'kova, N. S. Vasil'ev, G. E. Fedorov, A. B. Rubin // Dokl. Biochem. Biophys. – 2007. – T. 414 – № 1 – 137–140c.
32. Johnson R.M. Membrane stress increases cation permeability in red cells. / R. M. Johnson // Biophys. J. – 1994. – T. 67 – № 5 – 1876–81c.
33. Johnson R.M. Induction of a Ca(2+)-activated K⁺ channel in human erythrocytes by mechanical stress. / R. M. Johnson, K. Tang // Biochim. Biophys. Acta – 1992. – T. 1107 – № 2 – 314–8c.
34. Jubelin B.C. Erythrocytes may synthesize their own nitric oxide. / B. C. Jubelin, J. L. Gierman // Am. J. Hypertens. – 1996. – T. 9 – № 12 Pt 1 – 1214–9c.
35. Kaestner L. Cation Channels in Erythrocytes - Historical and Future Perspective / L. Kaestner – 2011. – № iii – 27–34c.
36. Kamkin A. Fundamentalnaja I kliničeskaja fiziologija. / A. Kamkin, A. Kamenskiji – Akademia, 2004.
37. Kim S. Aggregate formation of erythrocytes in postcapillary venules. / S. Kim, A. S. Popel, M. Intaglietta, P. C. Johnson // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2005. – T. 288 – № 2 – H584–90c.

38. Kleinbongard P. Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase. / P. Kleinbongard, R. Schulz, T. Rassaf, T. Lauer, A. Dejam, T. Jax, I. Kumara, P. Gharini, S. Kabanova, B. Ozüyaman, H.-G. Schnürch, A. Gödecke, A.-A. Weber, M. Robenek, H. Robenek, W. Bloch, P. Rösen, M. Kelm // *Blood* – 2006. – T. 107 – № 7 – 2943–51c.
39. Larsen F.L. Physiological shear stresses enhance the Ca^{2+} permeability of human erythrocytes / F. L. Larsen, S. Katz, B. D. Roufogalis, D. E. Brooks // *Nature* – 1981. – T. 294 – № 5842 – 667–668c.
40. LevtoV V.A. Reolgiij krovi. / V. A. LevtoV, S. A. Regirer, N. X. Shadrin – *Medicina*, 1982.
41. Margulis A. Rate of deactivation of nitric oxide-stimulated soluble guanylate cyclase: influence of nitric oxide scavengers and calcium. / A. Margulis, A. Sitaramayya // *Biochemistry* – 2000. – T. 39 – № 5 – 1034–9c.
42. Meiselman H.J. Red blood cell aggregation: 45 years being curious. / H. J. Meiselman // *Biorheology* – 2009. – T. 46 – № 1 – 1–19c.
43. Muravyov A. Role Ca^{2+} in mechanisms of the red blood cells microrheological changes. / A. Muravyov, I. Tikhomirova // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2012. – T. 740 – 1017–38c.
44. Muravyov A. V Role molecular signaling pathways in changes of red blood cell deformability. / A. V Muravyov, I. A. Tikhomirova // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2013. – T. 53 – № 1-2 – 45–59c.
45. Nelson G.A. Control of erythrocyte shape by calmodulin. / G. A. Nelson, M. L. Andrews, M. J. Karnovsky // *J. Cell Biol.* – 1983. – T. 96 – № 3 – 730–5c.

46. Novère N. Le The Systems Biology Graphical Notation. / N. Le Novère, M. Hucka, H. Mi, S. Moodie, F. Schreiber, A. Sorokin, E. Demir, K. Wegner, M. I. Aladjem, S. M. Wimalaratne, F. T. Bergman, R. Gauges, P. Ghazal, H. Kawaji, L. Li, Y. Matsuoka, A. Villéger, S. E. Boyd, L. Calzone, M. Courtot, U. Dogrusoz, T. C. Freeman, A. Funahashi, S. Ghosh, A. Jouraku, S. Kim, F. Kolpakov, A. Luna, S. Sahle, E. Schmidt, S. Watterson, G. Wu, I. Goryanin, D. B. Kell, C. Sander, H. Sauro, J. L. Snoep, K. Kohn, H. Kitano // Nat. Biotechnol. – 2009. – T. 27 – № 8 – 735–41c.
47. Oliveira S. de Modulation of erythrocyte deformability by PKC activity. / S. de Oliveira, A. S. Silva-Herdade, C. Saldanha // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2008. – T. 39 – № 1-4 – 363–73c.
48. Oonishi T. Regulation of red blood cell filterability by Ca²⁺ influx and cAMP-mediated signaling pathways. / T. Oonishi, K. Sakashita, N. Uyesaka // Am. J. Physiol. – 1997. – T. 273 – № 6 Pt 1 – C1828–34c.
49. Petrov V. Role of cyclic GMP in atrial-natriuretic-peptide stimulation of erythrocyte Na⁺/H⁺ exchange. / V. Petrov, A. Amery, P. Lijnen // Eur. J. Biochem. – 1994. – T. 221 – № 1 – 195–9c.
50. Petrov V. Human erythrocytes contain Ca²⁺, calmodulin-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase which is involved in the hydrolysis of cGMP. / V. Petrov, R. Fagard, P. Lijnen // Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. – 1998. – T. 20 – № 5 – 387–93c.
51. Preston G.M. Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons: member of an ancient channel family. / G. M. Preston, P. Agre // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 1991. – T. 88 – № 24 – 11110–4c.

52. Saldanha C. Modulation of erythrocyte hemorheological properties by band 3 phosphorylation and dephosphorylation. / C. Saldanha, A. S. Silva, S. Gonçalves, J. Martins-Silva // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2007. – T. 36 – № 3 – 183–94c.
53. Schmitz F. EF hand-mediated Ca- and cGMP-signaling in photoreceptor synaptic terminals. / F. Schmitz, S. Natarajan, J. K. Venkatesan, S. Wahl, K. Schwarz, C. P. Grabner // Front. Mol. Neurosci. – 2012. – T. 5 – 26c.
54. Smith B.L. Erythrocyte Mr 28,000 transmembrane protein exists as a multisubunit oligomer similar to channel proteins. / B. L. Smith, P. Agre // J. Biol. Chem. – 1991. – T. 266 – № 10 – 6407–15c.
55. Soldati L. Characterization of voltage-dependent calcium influx in human erythrocytes by fura-2. / L. Soldati, R. Spaventa, G. Vezzoli, S. Zerbi, D. Adamo, A. Caumo, R. Rivera, G. Bianchi // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1997. – T. 236 – № 3 – 549–54c.
56. Sprague R.S. Prostacyclin analogs stimulate receptor-mediated cAMP synthesis and ATP release from rabbit and human erythrocytes. / R. S. Sprague, E. A. Bowles, M. S. Hanson, E. A. DuFaux, M. Sridharan, S. Adderley, M. L. Ellsworth, A. H. Stephenson // Microcirculation – 2008. – T. 15 – № 5 – 461–71c.
57. Suzuki Y. Flow behavior of erythrocytes in microvessels and glass capillaries: effects of erythrocyte deformation and erythrocyte aggregation. / Y. Suzuki, N. Tateishi, M. Soutani, N. Maeda // Int. J. Microcirc. Clin. Exp. – 1996. – T. 16 – № 4 – 187–94c.
58. Tateishi N. O(2) release from erythrocytes flowing in a narrow O(2)-permeable tube: effects of erythrocyte aggregation. / N. Tateishi, Y. Suzuki, I. Cicha, N.

- Maeda // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2001. – Т. 281 – № 1 – H448–56c.
59. Tateishi N. Reduced oxygen release from erythrocytes by the acceleration-induced flow shift, observed in an oxygen-permeable narrow tube. / N. Tateishi, Y. Suzuki, M. Shirai, I. Cicha, N. Maeda // *J. Biomech.* – 2002. – Т. 35 – № 9 – 1241–51c.
60. Ulker P. Shear stress activation of nitric oxide synthase and increased nitric oxide levels in human red blood cells. / P. Ulker, N. Yaras, O. Yalcin, C. Celik-Ozenci, P. C. Johnson, H. J. Meiselman, O. K. Baskurt // *Nitric Oxide* – 2011. – Т. 24 – № 4 – 184–91c.
61. Valeyev N. V Elucidating the mechanisms of cooperative calcium-calmodulin interactions: a structural systems biology approach. / N. V Valeyev, D. G. Bates, P. Heslop-Harrison, I. Postlethwaite, N. V Kotov // *BMC Syst. Biol.* – 2008. – Т. 2 – 48c.
62. Valeyev N. V Multiple calcium binding sites make calmodulin multifunctional. / N. V Valeyev, P. Heslop-Harrison, I. Postlethwaite, N. V Kotov, D. G. Bates // *Mol. Biosyst.* – 2008. – Т. 4 – № 1 – 66–73c.
63. Zhang N. The nitric oxide-cGMP signaling pathway differentially regulates presynaptic structural plasticity in cone and rod cells. / N. Zhang, A. Beuve, E. Townes-Anderson // *J. Neurosci.* – 2005. – Т. 25 – № 10 – 2761–2770c.
64. Г Щ. Проблемы методологии системного исследования.// Избранные труды. М., [Электронный ресурс]. URL: <http://www.fondgp.ru/gp/biblio> (accessed: 15.04.2015).
65. Г Щ. Методологический смысл оппозиции натуралистического и системодейательностного подходов// Вопросы методологии [Электронный

ресурс]. URL: <http://www.fondgp.ru/lib/journals/vm/1991/2/gp91a0> (accessed: 15.04.2015).

66. Г.П. Щ. ФИЛОСОФИЯ НАУКА МЕТОДОЛОГИЯ”// М.:Шл.Культ. полититки [Электронный ресурс]. URL: <http://www.psymoct.com/clubmocht/metakm/metakmlib/metakmlib07.html> (accessed: 15.04.2015).

67. Фомин С.В. Б.М.Б. Математические проблемы в биологии// М.: Наука, Гл. ред. физ-мат литературы [Электронный ресурс]. URL: <http://www.twirpx.com/file/497647/> (accessed: 16.04.2015).

Учебное издание

Евстифеев Александр Иванович

Котов Николай Викторович

МЕТОДЫ АНАЛИЗА СТРУКТУР БИОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СИСТЕМ,
УПРАВЛЯЮЩИХ КЛЕТОЧНОЙ АКТИВНОСТЬЮ